Beiträge

zur

Kenntnis der vegetabilischen Hämagglutinine.

Eine auf Veranlassung der Königl. Bayerischen Akademie der Wissenschaften ausgeführte und durch Verleihung des Liebigstipendiums unterstützte Experimentaluntersuchung.

Von

Geh. Med.-Rat Prof. R. Kobert,
Direktor des Institutes für Pharmakologie und physiol. Chemie
der Universität Rostock.

Sonderabdruck aus: Landwirtschaftliche Versuchs-Stationen Band LXXIX—LXXX.
Erinnerungsband an O. Kellner

BERLIN
Verlagsbuchhandlung Paul Parey
Verlag für Landwirtschaft, Gartenbau und Forstwesen
SW. 11, Hedemannstraße 10 u. 11
1913.

Med
K5000

Kenntnis de

Eine auf Vera
der Wissensc
Liebigstipendi

G
Direktor d

Sonderabdruck aus:

22900275566

Med
K5000

Beiträge

zur

Kenntnis der vegetabilischen Hämagglutinine.

Eine auf Veranlassung der Königl. Bayerischen Akademie der Wissenschaften ausgeführte und durch Verleihung des Liebigstipendiums unterstützte Experimentaluntersuchung.

Von

Geh. Med.-Rat Prof. R. Kobert,
Direktor des Institutes für Pharmakologie und physiol. Chemie
der Universität Rostock.

Sonderabdruck aus: Landwirtschaftliche Versuchs-Stationen Band LXXIX—LXXX.
Erinnerungsband an O. Kellner.

BERLIN
VERLAGSBUCHHANDLUNG PAUL PAREY
Verlag für Landwirtschaft, Gartenbau und Forstwesen
SW. 11, Hedemannstraße 10 u. 11
1913.

Alle Rechte vorbehalten.

34782449

WELLCOME INSTITUTE LIBRARY
Coll. welMOmec
Call No. QK

Vorwort.

Bei nachstehender kleinen Schrift, die aus fünfundzwanzigjährigen Versuchen meines Dorpater und meines Rostocker Institutes über eine Reihe früher ganz unbekannter Pflanzenstoffe hervorgewachsen ist, ist der rote Faden der biologische Nachweis minimaler Mengen von Rizin in Futtermitteln der Haustiere und die sichere Unterscheidung dieses furchtbaren Giftes von auf Blut ähnlich wirkenden Stoffen. Es liegt mir fern, behaupten zu wollen, die Materie erschöpft zu haben; aber ich darf doch wohl hoffen, eine Frage energisch angeschnitten zu haben, die einerseits für die Landwirtschaft von erheblicher praktischer Bedeutung ist, und die andererseits für die Pflanzenphysiologie, für die Pharmakologie und vor allem für die Blutforschung im Ehrlichschen Sinne theoretisch das grösste Interesse hat. Unter solchen Umständen wird man es berechtigt finden, dass ich sie ausser in den „Versuchs-Stationen“ auch als gesonderte Schrift einem weiteren Kreise zugängig mache. — Eine Fortsetzung und Ergänzung nach verschiedenen Richtungen hin, die dem kritischen Leser sich als wünschenswert aufdrängen wird, ist bereits in Angriff genommen. Die Veröffentlichung, die bereits im Juli zum Druck abgeliefert worden ist, durfte jedoch nicht noch länger hinausgeschoben werden, da mehrere schwebende Prozesse das baldige Erscheinen forderten. Möge die Schrift auch auf die Richter und Sachverständigen aufklärend zu wirken imstande sein!

Rostock, im September 1912.

R. Kobert.

Inhaltsverzeichnis.

Seite

I. Definition und Darstellung des Rizins 1
II. Wirkung des Rizins auf defibriniertes verdünntes Blut . . . 6
III. Über die Rizinuslipase und ihre Wirkung 21
IV. Über die Wirkung des Rizins auf Tiere 28
V. Über den Nachweis des Rizins in Futtermitteln, die keine andern Agglutinine enthalten 39
1. Weizenausreuter 39
2. Weizenkleie 40
3. Roggenkleie 44
4. Gersten- und Hafermehl 44
5. Palmkernmehl 45
6. Kokoskuchen 46
7. Sesamkuchen 53
8. Leinkuchen 54
9. Baumwollsamenkuchen 55
VI. Über den Nachweis des Rizins in einem Futtermittel, welches an sich ein Agglutinin enthält 56
1. Über Phasine im allgemeinen 56
2. Über Darstellung und Wirkung des Erdnussphasins . . . 62
3. Über die Unterscheidung des Erdnussphasins vom Rizin in Gemischen 63
4. Über die Untersuchung einiger eingesandter giftiger Erdnnsskuchen 65
VII. Über Krotin 68
1. Historisches und Botanisches über Kroton 68
2. Über das Krotonöl und seine Wirkungen 68
3. Über die Wirkungen und den Nachweis des Krotins . . 72
VIII. Über Abrin 73
1. Historisches über dic Paternostererbse 73
2. Über die Blutwirkung und den Nachweis des Abrins . . 76
IX. Über Robin und Robiniensamenphasin 80
1. Über die Robinienrinde und ihren eiweissartigen Bestandteil 80
2. Über den auf Blut wirksamen Bestandteil der Robiniensamen 84

Seite

X. Über einige noch unerwähnte Phasine 85
1. Über Sojaphasin 85
2. Über Wistarienphasine 90
a) Über das Phasin der Wistaria sinensis *DC.* sive Kraunhia floribunda *Taub.* 90
b) Über das Phasin der Wistaria speciosa *Nutt.* sive Wistaria frutescens *DC.* 92
3. Über Caraganaphasin 93
4. Über Canavalienphasin 94
5. Über Ormosienphasin 97
6. Über Helmbohnenphasin 98
7. Über Sphenostylisphasin 98
8. Über Erderbsenphasin 99
9. Über Phasine der Samen dreier einheimischer Futterkräuter 100
a) Über das Phasin von Medicago sativa 100
b) Über das Phasin von Melilotus coeruleus 100
c) Über das Phasin von Lotus corniculatus 100

XI. Über Papilionaceen, in denen statt der Phasine sich Hämolysine finden 101
1. Das Kundebohnenhämolysin 103
2. Das Besenkrauthämolysin 103

XII. Über Pseudoagglutination 104

Verzeichnis der Tabellen über Blutversuche.

Seite

Tabelle I. Vergleichende Übersicht über die Stärke der Einwirkung von Rizinusauszügen auf verschiedene Blutarten 21

Tabelle II. Vergleichende Übersicht über die Stärke der Einwirkung der nach JALANDER dargestellten Lipase aus Rizinus und der entölten Rizinussamen auf verschiedene Blutarten 26

Tabelle III. Vergleichende Übersicht über die Stärke der Einwirkung des Phaseolusphasins auf verschiedene Blutarten 58

Tabelle IV. Vergleichende Übersicht über die Stärke der Einwirkung des Abrussamenauszuges und des Abrins auf verschiedene Blutarten 78

Tabelle V. Vergleichende Übersicht über die Stärke der Einwirkung des Rindenrobins auf verschiedene Blutarten 83

Tabelle VI. Vergleichende Übersicht über die Stärke der Einwirkung des Samenphasins der Robinie auf verschiedene Blutarten 85

Tabelle VII. Vergleichende Übersicht über die Stärke der Einwirkung des Phasins der Wistaria sinensis auf verschiedene Blutarten . . 91

Tabelle VIII. Vergleichende Übersicht über die Stärke der Einwirkung des Phasins der Wistaria frutescens auf verschiedene Blutarten . . 92

Tabelle IX. Vergleichende Übersicht über die Stärke der Einwirkung des Phasins der Caragana arborescens auf verschiedene Blutarten 93

Tabelle X. Vergleichende Übersicht über die Stärke der Einwirkung des Phasins der Canavalia ensiformis auf verschiedene Blutarten . 97

Tabelle XI. Vergleichende Übersicht über die Stärke der Einwirkung des Hämolysins der Samen des Besenkrautes auf verschiedene Blutarten 104

Tabelle XII. Vergleichende Übersicht über die Stärke einerseits der ausflockenden und andererseits der hämolysierenden Wirkung des Endsapogenins der Saponaria alba 108

Zahlreiche in den letzten zwei Jahrzehnten vorgekommene unbeabsichtigte Vergiftungen von pflanzenfressenden Haustieren durch Rizinusbeimischung zum Futter haben das Kuratorium der Liebigstiftung veranlasst, mich zu weiteren Studien über die Giftigkeit und den Nachweis des Rizins anzuregen und dabei materiell zu unterstützen. Ich bin der Bayerischen Akademie der Wissenschaften für diese Unterstützung zu grösstem Danke verpflichtet. Ich fasse meine Aufgabe so auf, dass auch die andern etwa den Landwirt interessierenden Hämagglutinine dabei mit Berücksichtigung finden müssen, weil sonst grobe Irrtümer bei Anwendung meiner Angaben über Rizinusnachweis in der Praxis ganz unvermeidlich sind.

I. Definition und Darstellung des Rizins.

Im Jahre 1887 habe ich durch Hermann Stillmark[1]) das Wort Rizin in die Literatur einführen lassen. Wir meinen damit den Träger der Giftwirkung der Rizinussamenpresskuchen. Gleichzeitig liess ich, damit jeder unsere Versuche nachprüfen könne, nach meinen Vorschriften ein Rizinpräparat für den Handel aus entfetteten Samen darstellen. Diese Methode beruhte auf dem Prinzipe, den Presskuchen mittels physiologischer Kochsalzlösung auszuziehen, diesen Auszug mittels Magnesiumsulfat auszusalzen und den dadurch entstandenen Niederschlag

[1]) Arbeiten des pharmakol. Instituts zu Dorpat, herausgegeben von R. Kobert, Bd. 3, 1889, S. 59 (die zugrunde liegende Dissertation erschien schon 2 Jahre früher).

zu dialysieren. Dabei geht die Hauptmenge der Salze weg, während das Rizin zurückbleibt, da es nicht dialysierbar ist. Eine zweite Methode, welche für alle vegetabilischen Agglutinine wenigstens für unsere Zwecke hier verwendbar und viel einfacher ist, besteht in der Fällung des konzentrierten, 0.9 % Kochsalz enthaltenden wässerigen Auszuges mit dem mindestens gleichen Volumen Alkohol, Nachwaschen mit wenig Alkohol und Trocknen des Niederschlages im Vakuum ohne Erhitzung auf Tonplatten, die vorher scharf getrocknet und angewärmt sind. Die Alkoholmenge beim Fällen des Auszuges recht gross zu wählen hat den Vorteil, dass man sehr rasch zur Filtration schreiten kann, und dass diese gut vor sich geht. Andererseits aber wird das Präparat um so unlöslicher, je konzentrierter der Alkohol war, mit dem es in Berührung gekommen ist, und je länger er eingewirkt hat.

Beide Methoden ergaben selbstverständlich kein reines Rizin, wohl aber eine von störenden Nebenstoffen freie rizinhaltige Substanz; sie liefern also ein für alle biologischen und pharmakologischen Untersuchungen ausreichendes Präparat. Jeder kann sich an der Hand obiger Angaben seine Substanzen relativ billig und mühelos selbst herstellen. Sie wirken stark und sind Jahre lang haltbar. Die Löslichkeit nimmt mit der Zeit natürlich ab; man muss daher immer den ungelöst gebliebenen Teil abziehen. Ebenso ist der Wasser- und Aschegehalt der Präparate in Abrechnung zu bringen. Die Asche ist namentlich bei den nach der ersten Methode gereinigten Präparaten sehr beträchtlich. Das Wasser durch scharfes Trocknen ganz zu entfernen empfiehlt sich nicht, weil dann die Löslichkeit rasch stark abnimmt. Die Asche besteht bei Benutzung der ersten Methode der Darstellung zumeist aus Magnesiumsulfat; sie stört, da meist nur stark verdünnte Lösungen benutzt werden, gewöhnlich nicht. Will man zum Zweck sehr feiner Versuche chemisch reines Rizin verwenden, so verfährt man nach Osborne.[1])

Nach diesem Autor extrahiert man das ganz entfettete schalenfreie Presskuchenpulver der Rizinussamen mit 10 %iger

[1]) Biochem. Handlexikon, herausgegeben von E. Abderhalden, Bd. 4, 1911, S. 37. Vergl. auch Thomas B. Osborne, The vegetable Proteins (London 1909), S. 74 und 94.

Kochsalzlösung, wobei Albumin und Globulin in Lösung gehen, fällt das Globulin durch Dialyse und versetzt die filtrierte Lösung mit so viel Ammonsulfat, bis $^6/_{10}$ der vollständigen Sättigung erreicht sind. Der dabei entstehende Niederschlag enthält, praktisch genommen, das gesamte Rizinus-Albumin, d. h. das Rizin, und daneben eine beträchtliche Menge Proteose. Durch fraktionierte Fällung des gelösten Niederschlages mit Ammonsulfat wird der grösste Teil des Rizins bereits unterhalb 45 % Sättigung von der Proteose getrennt und niedergeschlagen. Eine vollständige Trennung des Rizins von der Proteose wurde auch von Osborne bisher noch nicht bewerkstelligt. Vielleicht lässt sie sich durch fraktionierte Fällung mit Magnesiumsulfat erreichen. Der Niederschlag muss mittels Dialyse gereinigt und bei 50° eingedunstet werden. In diesem Falle bleibt der Verdunstungsrückstand wasserlöslich. Die auf diese Weise erhaltene Substanz ist, wie schon oben gesagt wurde, ein Albumin. Ihre Menge beträgt **ein** Prozent des Presskuchens der entölten Samenkerne. Wir kommen auf diese wichtige Zahl unten zurück.

Schon 1887 habe ich mit Stillmark das Rizin als in die Gruppe der pflanzlichen Albuminstoffe gehörig bezeichnet. Das reinste von Osborne erhaltene Präparat bestand zu 70 % aus Albumin und zu 30 % aus Proteose, die aber als eine an der Wirkung unbeteiligte Verunreinigung anzusehen ist. Nichtsdestoweniger besass das Präparat schon in Mengen von einem Tausendstel Milligramm tödliche Wirkung für ein erwachsenes Kaninchen. Dass man unter solchen Umständen zunächst kaum glauben möchte, nicht diese homöopathisch kleine Eiweissmenge, sondern eine noch viel viel kleinere, daran haftende Toxinmenge sei das Wirksame, ist selbstverständlich. Und doch will M. Jacoby[1]) ein eiweissfreies Rizin dargestellt haben, dessen letale Dose ebenso klein war. Eine eingehende Studie von Osborne, Mendel und Harris[2]) war der Entscheidung der Frage der Eiweissnatur des Rizins gewidmet. Sie zeigte, dass das Globulin der Rizinussamen gänzlich ungiftig ist, und dass fortschreitende Reinigung des Albumins dieser Samen auch fortschreitend seine Giftig-

[1]) Handb. d. Technik u. Methodik der Immunitätsforschung Bd. 1, Lief. 1 (Jena 1907), S. 313.

[2]) Americ. Journ. of Physiol. 14, 1905, S. 259.

keit erhöht. Die von dem eben erwähnten Autor M. Jacoby[1]) behauptete Abtrennung des Albumins vom wirksamen Toxin durch langdauernde Trypsinverdauung wird von Osborne nicht anerkannt; vielmehr gipfelt seine Abhandlung über die Natur des Rizinusgiftes darin, dass er, genau wie Stillmark 1887 und ich es 1889 getan haben, es für ein „echtes Toxalbumin“ erklärt. Selbst Jacoby erklärt am Ende seiner Polemik gegen die drei englischen Forscher, dass zwar sichere Beweise für die Eiweissnatur des Rizins fehlen, dass die spätere Erbringung solcher jedoch nicht ausgeschlossen ist. Natürlich wird niemand verhindert, die Vermutung auszusprechen, dass es mit der Zeit doch gelingen wird, dieses Toxalbumin in ein Toxin und ein wirkungsloses Albumin zu zerlegen; aber bis jetzt ist diese Trennbarkeit nach Osborne eben lediglich eine Hypothese. Den Versuch, die Eiweisskomponente abzuverdauen, habe ich gleich anfangs und später noch oft machen lassen; er ist auch von andern wiederholt worden. Ich halte das Ergebnis der Verdauungsversuche von Osborne, Mendel und Harris für einwandfrei. Es besagt, dass das Rizin gegen Trypsin zwar lange Zeit hindurch widerstandsfähig ist, dann aber doch verdaut und dabei entgiftet wird. Auch Jacoby gibt zu, dass reines Rizin durch Trypsin zerstört wird. Zu der Annahme einer grossen Widerstandsfähigkeit des unreinen, d. h. des mit anderen Eiweissstoffen vermischten Rizins gegen die Verdauungsfermente, zwingt uns ja auch die weiter unten noch zu besprechende tödliche Wirkung selbst kleiner an Haustiere verfütterter Rizinusmengen.

Die chemische Zusammensetzung des Rizins kann zurzeit natürlich noch nicht durch eine Formel ausgedrückt werden. Prozentisch ergaben sich bei dem reinsten Osborneschen Präparate 52.01 C, 7.02 H, 16.56 N, 1.29 S, 23.12 O. Das Rizin ist schon in Wasser, welches Spuren von Neutralsalzen enthält, löslich; auch in physiologischer Kochsalzlösung und in ihr isotonischen Lösungen anderer Neutralsalze löst es sich; es ist jedoch unlöslich in gesättigter Magnesiumsulfatlösung und in halbgesättigter Ammonsulfatlösung. Die Rizinlösungen drehen die Ebene des polarisierten Lichtes nach links. Rizin gibt alle den Proteinen zukommenden Farbenreaktionen. Es wirkt aber noch letal in

[1]) Arch. exp. Path. u. Pharm. Bd. 46, 1901, S. 39.

Verdünnungen, die keine der üblichen Reaktionen mehr geben und daher eiweissfrei zu sein scheinen. Solche Lösungen nennen einige eiweissfreie Rizinlösungen. Von Fällungsmitteln des Rizins nenne ich namentlich Phosphorwolfram- und Phosphormolybdänsäure. Absoluter Alkohol macht es rasch unlöslich und bedingt dadurch erheblichen Verlust der Wirksamkeit. Bei dem von mir vorgeschlagenen zweiten Darstellungsverfahren kommt es meist nur mit 50 %igem Alkohol in kurze Berührung, die nach meinen Erfahrungen unschädlich ist. Der Angabe von Osborne, dass alle Verfahren, welche Alkohol verwenden, die Wirksamkeit schwer beeinträchtigen, kann ich daher nicht beistimmen. Erhitzt man wässerige Rizinlösungen auf 60—70°, so soll nach Osborne, Mendel und Harris[1]) „im allgemeinen" Koagulation eintreten. Ich muss gleich hier dieser Angabe gegenüber betonen, dass bei allen von mir vorgenommenen Versuchen das in physiologischer Kochsalzlösung erhitzte Rizin seine Aktivität und Löslichkeit zum grössten Teile bewahrte, auch wenn eine ganze Stunde lang auf 70, ja selbst auf 75° erhitzt wurde. Die Reaktion muss dabei aber scharf neutral sein; verdünnte Salzsäure in minimaler Menge hebt bei 70° die Wirksamkeit binnen 1 Stunde völlig auf. Trockenes Erhitzen, z. B. beim Auspressen der Futterkuchen unter hohem Druck, hebt die Giftigkeit und die Blutwirkung des Rizins nicht auf, selbst wenn die Temperatur bis 120° ansteigt. Für die weiter unten folgenden Versuche mit Rizinus-Erdnussgemischen ist dies von grosser Wichtigkeit. Eine völlige Ausfällung des Rizins aus der Lösung in physiologischer Kochsalzlösung trat selbst bei halbstündiger Erhitzung auf 100° C. niemals ein, natürlich aber eine Denaturierung. Osborne betont, dass es eine Eigentümlichkeit vieler pflanzlichen Proteine ist, beim Kochen teilweise in Lösung zu bleiben.

Das Rizin hat die Fähigkeit, sich mit vielen lipoidreichen Zellen des Körpers der Menschen und Tiere chemisch zu verbinden. Ich habe dies schon 1900 mit C. Lau[2]) studiert. Für isolierte Gehirn-, Leber-, Nierenzellen usw. habe ich es soeben mit Reid von neuem festgestellt. In beiden Fällen war unsere Technik die, dass die völlig blut-

[1]) Americ. Journ. of Physiol. 14, 1905, S. 259.
[2]) Über vegetabilische Blutagglutinine, S. 55. Dissert. Rostock 1901.

freien, durch ein feines Maschennetz von gröberen Partikeln getrennten Zellen in physiologischer Kochsalzlösung suspendiert und mit in physiologischer Kochsalzlösung gelöstem Rizin versetzt werden. Man sieht dann oft schon nach wenigen Minuten sich die Zellen zu gröberen Flocken zusammenballen, während in den Kontrollgläschen nichts derartiges wahrnehmbar ist. Natürlich kann man auch ein passendes Organ, wie z. B. die Leber, nach völliger Entfernung des Blutes mit Ringerscher Lösung, der Rizin zugesetzt ist, durchströmen, wie dies z. B. W. N. Woronzow[1]) getan hat. Die Leberzellen verankern dabei das Gift und die ausströmende Flüssigkeit wird schliesslich ganz giftfrei. In ganz analoger Weise vermögen auch die roten Blutkörperchen das Rizin zu verankern. Davon wollen wir im Kapitel II weiter reden. Hier ist nur erst noch die Frage der Einheitlichkeit oder Nichteinheitlichkeit des Rizins zu besprechen. Für die exakte Chemie ist das Rizin bis jetzt eine chemische Einheit. Da es zwei leicht unterscheidbare Wirkungen, eine agglutinierende im Reagenzglas und eine toxische beim Tierversuch zeigt, so haben Cushny,[2]) Fr. Müller[3]) und andere behauptet, es sei ein Gemisch zweier Substanzen, eines Agglutinins und eines Toxins. Da jedoch die Leberzellen, die von dem hypothetischen Gemisch doch nur das Toxin verankern sollten, auch das Agglutinin der Ringerschen Flüssigkeit entziehen, und da umgekehrt die Blutkörperchen der Zwischenflüssigkeit nicht nur Agglutinin entziehen, sondern auch deren toxische Eigenschaften ganz ausserordentlich schwächen, so beharre ich vorläufig noch auf meinem von Anfang an eingenommenen Standpunkte, dass der Beweis der Nichteinheitlichkeit des Rizins zurzeit noch nicht einwandfrei erbracht ist.

II. Wirkung des Rizins auf defibriniertes verdünntes Blut.

Seit meinen ersten Versuchen mit Stillmark verfährt man noch heute zur Prüfung der Wirkungsstärke des Rizins am besten in der Weise, dass man frisches Blut z. B. vom Kaninchen vorsichtig defibriniert und mit physiologischer Kochsalzlösung

[1]) Beitrag zur Frage der entgiftenden Rolle der Leber im tierischen Organismus, S. 55. Diss. Dorpat 1910.

[2]) Arch. exp. Path. und Pharm. Bd. 41, 1898, S. 439.

[3]) Ebenda Bd. 42, 1898, S. 302.

50fach verdünnt. Das Blutserum kann vorher durch Zentrifugieren entfernt worden sein; jedoch wirkt bei 50—100facher Verdünnung seine Anwesenheit nicht sehr störend, sondern schwächt nur die Intensität der Wirkung etwas ab. Wiederholtes Waschen und mehrmaliges Abzentrifugieren ist für die Normalität der Blutkörperchen von üblem Einfluss; ich habe diese Reinigungsmethoden daher meist nicht benutzt. P. Rona und D. Takahaschi[1]) zeigten, dass dabei den Blutkörperchen z. B. ihr Calcium entzogen wird. Ich lege gerade auf Normalität der Blutkörperchen den grössten Wert. Von der 2%igen Blutkochsalzmischung füllt man in eine Reihe gleichweiter Reagenzgläser je 5 ccm ein. Alsdann setzt man zu einigen Gläschen je 5 ccm physiologischer Kochsalzlösung ohne Rizin, zu den andern dieselbe Menge Kochsalzlösung, aber unter Beimischung steigender Mengen von Rizin. Alsdann werden alle Gläschen vorsichtig einmal umgekehrt und dann unberührt bei Zimmertemperatur stehen gelassen, bis das Rizin sich in den roten Blutkörperchen verankert hat. Dieser Prozess erfordert bei sehr kleinen Dosen bis 18 Stunden. Erwärmen im Brutschrank beschleunigt ihn; jedoch habe ich diese Hilfsprozedur nie angewandt, weil sie auch das Verderben des Blutes begünstigt. Die an der Oberfläche mit Rizin beladenen Blutkörperchen erhalten dadurch klebrige Eigenschaften, haften bald fest aneinander und fallen als siegellackrote Klümpchen rasch zu Boden, wo alle Klümpchen sich zu einer grösseren klumpigen Masse vereinigen, während die darüber stehende Flüssigkeit farblos wird. In den Kontrollgläschen senken sich die roten Blutkörperchen zwar auch zu Boden, aber viel langsamer und ohne aneinander zu haften, so dass man durch leichtes Umschütteln wieder den ursprünglichen Zustand herstellen kann. Nur wenn das Blut autolytisch sich zersetzt oder zu faulen beginnt, tritt auch in dem Kontrollgläschen eine Verklebung der Blutkörperchen ein. Solche Versuche sind natürlich prinzipiell zu verwerfen, weil sie ja eine Unterscheidung der freien Verklebung und der Rizinverklebung unmöglich machen. Im Sommer kommen derartige Störungen, falls man nicht mit ganz frischem oder auf Eis aufgehobenem Blute arbeitet, leicht vor. Man tut unter allen Umständen gut, das Blut wenn möglich sofort nach der Entnahme zu benutzen

[1]) Biochem. Zeitschr. Bd. 31, 1911, S. 336

und möglichst steril zu arbeiten. Blut von narkotisierten Tieren ist am besten ganz zu meiden.

Wohl aber kann man im Notfalle, wenn nur selten frisches Blut zur Verfügung steht, die durch Absetzen aus z. B. Katzen-, Kaninchen- oder Pferdeblut gewonnenen roten Blutkörperchen durch kurzes Eintragen in eine Kochsalzlösung, die 1% Formaldehyd enthält, etwas anhärten und dadurch viel länger haltbar machen als gewöhnliche Blutkörperchen. Schon Hideyo Noguchi[1]) hat dies Verfahren mit Erfolg bei Rizinversuchen angewandt. Auch die in den Handel kommenden Hammelblutkörperchen werden in dieser Weise präpariert.

Ich habe durch Elfstrand[2]) für den Prozess der Verklebung der Blutkörperchen bei der Rizinwirkung den Ausdruck Hämagglutination einführen lassen. Ich wollte damit andeuten, dass bei äusserlicher Betrachtung das Phänomen der Bakterienagglutination mit dem der Blutkörperchenagglutination eine gewisse Ähnlichkeit hat. Demgegenüber glauben Miessner und Rewald[3]), der Ausdruck Agglutination der Blutkörperchen dürfte zu falschen Auffassungen Anlass geben, da Agglutination sich auf Verklebung von Mikroben durch Serum beziehe. Wie die genannten Autoren dies behaupten können, nachdem ich den Begriff der Hämagglutination vor vielen Jahren in die Wissenschaft hatte einführen lassen, und nachdem er von den bedeutendsten Forschern längst anerkannt worden ist, ist mir unverständlich. Miessner und Rewald wollen den Ausdruck Hämagglutination durch Konglutination ersetzen. Nun sagt aber J. O. Sauli:[4]) „Konglutination ist eine Reaktion, die im Rinderserum dadurch zustande kommt, dass gleichzeitig Antigen, Antikörper und Komplement zugegen sind.“ Von alledem ist bei unseren Versuchen aber doch keine Rede. Auch nach den Ausführungen von Hugo Hecht[5]) ist die Bezeichnung Kongluti-

---

[1]) The antihaemolytic action of blood sera . . . . together with observations upon the agglutination of hardened red corpuscules. University of Pennsylvania Medical Bulletin Nov. 1902.

[2]) Über Blutkörperchen agglutinierende Eiweisse. Görbersdorfer Veröffentlichungen, herausgegeben von R. Kobert, erstes Bändchen (Stuttgart 1898), S. 1.

[3]) Zeitschr. für Immunitätsforschung u. exp. Ther. Bd. 2, 1909, S. 325.

[4]) Ebenda Bd. 9, 1911, S. 359.

[5]) Berliner Klin. Wochenschr. 1912, No. 2, S. 58.

nation nicht im mindesten passender als der von mir gewählte Name Hämagglutination oder Agglutination der roten Blutkörperchen.

Der in den Reagenzgläsern bei Rizinzusatz zu den Blutkochsalzmischungen vor sich gehende Prozess erfordert eine gewisse Zeit, da er in mindestens zwei Phasen zerfällt. In der ersten Phase geht das kolloidale Rizin aus der Zwischenflüssigkeit an die Oberfläche der Blutkörperchen. Zentrifugiert man gegen das Ende dieser Phase und untersucht die abgetrennte klare Flüssigkeit auf Rizin, so zeigt sowohl der chemische als der biologische Versuch, dass die Hauptmenge des Rizins aus der Flüssigkeit verschwunden ist. Die zweite Phase beginnt, sobald die Blutkörperchen sich genügend mit Rizin beladen haben. Ihre Lipoidmembran ist jetzt in ein Rizinlipoid umgewandelt, welches physikalisch grosse Neigung hat, sich an andere Gebilde derselben Art untrennbar fest anzulegen und unter Verlust der eignen Form mit jenen zu verschmelzen. Tausende von Blutkörperchen können sich auf diese Weise zu einem Klumpen zusammenballen, halten aber das eingeschlossene Hämoglobin sowie das Rizin zunächst noch einigermassen fest; gelockert ist es allerdings schon. War die Rizinmenge viel zu gross, oder werden die Gläschen stark geschüttelt, so wird die Umschliessung des Hämoglobins so mangelhaft, dass als dritte Phase partielle Hämolyse eintritt. Der Niederschlag entfärbt sich dann, enthält aber immer noch das Rizin gebunden. Fraenkel[1]) sah die Hämolyse besonders bei Fischblut; sie kommt aber auch bei andern Blutarten vor, wie Liebermann[2]) mit Recht betont. Schon zu Beginn der zweiten Phase hat das Gemisch eine Neigung, beim Aufgiessen auf ein Filter auf diesem bezw. zwischen den Maschen seines Gewebes haften zu bleiben, während eine rizinfreie Blutkochsalzmischung durch ein dünnes Filter ebenso konzentriert durchfliesst als sie aufgegossen wird. Man kann daher in zweifelhaften Fällen den Filtrierversuch durch ein trocknes Filter als Kriterium benutzen, ob Agglutination stattgefunden hat. Falls nach dem Durchfliessen das Filter siegellackartige rote Klümpchen aufweist, ist zum mindesten eine partielle Agglutination vorhanden. Falls sie total

[1]) Hofmeisters Beiträge Bd. 4, 1903, S. 224.
[2]) Arch. f. Hygiene Bd. 62, 1907, S. 290.

ist, bleiben, wenn nicht beim ersten, so doch beim zweiten Aufgiessen alle Blutkörperchen auf dem Filter, und das Filtrat ist so gut wie blutkörperchenfrei; oft ist es geradezu farblos. Beim Nachweis des Rizins in eiweissreichen Futterkuchen kommt es vor, dass die Agglutination keine feste ist, so dass der Niederschlag im Reagenzglas nur locker zusammengeballt ist und durch Schütteln wieder völlig zerteilt werden kann. Wir werden später sehen, wie zur Sicherung der Diagnose dann weiter zu verfahren ist. Man redet in solchen Fällen wohl von Ausflockung. Ich habe von Ausflockung bei allen meinen Versuchen nur dann geredet, wenn nach leichtem Umschütteln zwar nichts rechtes von Agglutination mit dem Auge mehr wahrnehmbar war, aber dennoch die Filtration ein fast blutkörperchenfreies Filtrat lieferte. Manchmal kam es vor, dass der Bodensatz eines Gläschens wie agglutiniert aussah, aber trotzdem glatt durchs Filter ging. In solchen Fällen muss wohl ein niederer Grad von Agglutination angenommen werden.

Bei der vollkommenen Agglutination durch Rizin und ihm verwandte Stoffe wird der Kochsalzlösung, in der die Blutkörperchen suspendiert sind, das Rizin genau so wie bei dem S. 6 erwähnten Leberdurchströmungsversuch entzogen. Hat man keinen Überschuss zugesetzt, so wird die Zwischenflüssigkeit der Blutkörperchen völlig oder fast völlig giftfrei, während die Blutkörperchen sich damit beladen. Je empfindlicher eine Blutart für Rizin ist, desto mehr vermag sie nach H. Raubitschek[1]) davon zu verankern.

Albumosen und Wittesches Pepton hindern das Zustandekommen der Agglutination; ja sie sind nach Raubitschek[2]) imstande, bei nachträglichem Zusatz eine Desagglutination herbeizuführen. Sind solche Stoffe aber nicht vorhanden, so kann man aus einem bunten Gemisch von Stoffen, wie ein mit Hilfe von physiologischer Kochsalzlösung bereiteter neutralisierter Auszug aus einem Futterkuchen sie bietet, das etwa darin befindliche Rizin durch Eintragen von roten Blutkörperchen oder — falls man diese nicht hat — von unverdünntem defibriniertem

---

[1]) Zeitschr. f. Immunitätsforschung und exp. Ther. Bd. 9, 1911, S. 297.

[2]) H. Raubitschek, Wiener Klin. Wochenschr. 1909, No. 30. — K. Landsteiner und H. Raubitschek, Biochem. Zeitschr. Bd. 15, 1908, S. 35.

Blute entziehen und fast quantitativ niederschlagen. Der aus der Verbindung der roten Blutkörperchen mit dem Rizin bestehende fest zusammenhängende Niederschlag lässt sich durch Dekantieren von der darüber stehenden rizinfrei gewordenen Auszugsflüssigkeit trennen und mit physiologischer Kochsalzlösung sogar waschen. Den gewaschenen Massen entzieht man jetzt nach dem von v. Liebermann[1]) angegebenen Verfahren das verankerte Rizin. Zu diesem Behufe pflege ich pro Kubikzentimeter Blut dem Agglutinat zwei Tropfen verdünnter Salzsäure zuzusetzen und damit energisch zu verrühren. Die Farbe muss dabei aus dem Roten ins Braunschwarze übergehen, d. h. aus Hämoglobin muss Säurehämatin werden. Dieses bildet eine teerige Masse. Binnen 1—2 Minuten pflegt diese Bildung vor sich zu gehen. Wenn nicht, so muss noch ein dritter Tropfen Salzsäure hinzugefügt werden. Sobald Hämatinbildung eingetreten ist, ist man sicher, dass auch die Verbindung des Rizins mit dem Stroma völlig gelöst ist. Man neutralisiert jetzt den Brei durch tropfenweisen Zusatz von Natriumkarbonatlösung. Sobald Neutralität eingetreten ist, bringt man den dunkelbraunen, jetzt mit einem Male feinflockig werdenden Brei auf ein möglichst kleines Filter und wäscht mit physiologischer Kochsalzlösung nach, bis man pro Kubikzentimeter des verwandten Blutes 6 Kubikzentimeter Filtrat hat. Dieses hat bei genauem Einhalten obiger Vorschrift weder eine rote noch eine braune, sondern lediglich eine hellgelbe Farbe und enthält im wesentlichen Kochsalz und Rizin. Hat man Grund anzunehmen, dass viel Rizin in den Futterkuchen war, so verteilt man die 6 ccm auf 3 Reagenzgläschen, welche schon vorher mit je 5 ccm 2 %igem Blut beschickt sind. Zwei weitere Gläschen (No. I und V) erhalten ebenfalls je 5 ccm 2 %iges Blut und je 5 ccm physiologische Kochsalzlösung. Glas II erhält 3 ccm des wiedergewonnenen Rizins und 2 ccm Kochsalzlösung. Glas III erhält 2 ccm Rizin und 3 ccm Kochsalzlösung und Glas IV 1 ccm Rizin und 4 ccm Kochsalzlösung. Nach einigen Stunden zeigt, falls die Rizinmenge gering war, nur Glas II deutliche Agglutination; falls sie gross war, tritt auch in Glas III und IV die Agglutination sicher auf. Falls man weiteres isoliertes Rizin besitzt, kann man dies für Tierversuche verwenden. Die An-

[1]) Archiv für Hygiene Bd. 62, 1907, Heft 4.

nahme, dass das Rizin ein Gemisch von Agglutinin und von Toxin sei, und dass die Blutkörperchen hauptsächlich nur das Agglutinin verankern, nicht aber das Toxin, ist, wie ich schon oben (S. 6) besprach, unrichtig. Demgemäss konnte ich in allen Fällen, wo ich in Futterkuchen merkliche Rizinmengen fand, mit dem aus seiner Blutkörperchenverbindung frei gemachten Rizin nicht nur von neuem agglutinierend wirken, sondern ich vermochte auch stets damit ein Kaninchen zu vergiften, falls ich genügende Mengen von Ausgangsmaterial verwendet hatte.

Sehr wichtig ist, dass bei der Untersuchung minderwertiger, d. h. von Schimmelpilzen und Bakterien zersetzter Futtermittel, wie dies z. B. bei dem vielbesprochenen Bismarck-Prozess der Fall war, nicht nur unter Anwesenheit von Toluol der erste Auszug gewonnen werden muss, sondern dass dieser Auszug nach sorgfältiger Neutralisierung auch noch eine Stunde lang auf 70° erhitzt wird. Dabei verwandelt er sich in eine sterile, haltbare Flüssigkeit, mit der in aller Ruhe alle nötigen Proben angestellt werden können.

Ich habe überhaupt keine einzige Futterkuchenextraktion ganz ohne Toluol vorgenommen. Einzelne Extrakte scheiden langsam eine unlöslich werdende Eiweisssubstanz in geringer Menge ab. In diesem Falle genügt jedoch eine neue Filtration, um diese Extrakte wieder brauchbar zu machen. Ein Beweis bakterieller Zersetzung ist diese Abscheidung ganz und gar nicht.

Über das Wesen des Agglutinationsvorgangs sind die Ansichten von Anfang an auseinander gegangen. Während die einen den Vorgang als Toxinreaktion auffassen, wollen die andern ihn als Fermentwirkung erklären.

In der Tat hat das Rizin in vieler Hinsicht Toxincharakter. Toxine wirken oft enorm stark; dies gilt für das Rizin. Kochen entgiftet die Toxine; dies gilt für das Rizin. Toxine geben bei länger fortgesetzter Fütterung mit steigenden Dosen eine spezifische aktive Immunität; dies gilt, wie P. Ehrlich[1]) fand, im allereigentlichsten Sinne für das Rizin. Diese spezifische Immunität beruht bei den Toxinen auf der Erzeugung eines spezifischen, von noch unbekannten Körperzellen abgesonderten und dann im Blutserum gelöst vorhandenen Antitoxins. Dass bei der Zufuhr steigender Dosen von Rizin ein Antirizin ent-

[1]) Deutsche med. Wochenschr. 1891, No. 32.

steht, welches im Reagenzglase mit Rizin eine unlösliche Verbindung gibt, ist von Ehrlich entdeckt und oft nachgeprüft worden. Es ist eine der wichtigsten Grundtatsachen der Immunisierungslehre. Unter solchen Umständen muss es berechtigtes Aufsehen erregen, wenn in einem soeben erschienenen Artikel L. Lewin[1]) erklärt, dass es gegen Rizin keine Immunisierung gibt. Er dürfte mit dieser Ansicht wohl ziemlich isoliert dastehen. Natürlich kann man das Serum von rizinimmunisierten Tieren zum Nachweis von Rizin in Futterkuchenauszügen mit verwenden, wie dies Miessner[2]) zuerst getan hat. Da es jedoch recht kostspielig ist, und da bei Anwesenheit nur von Spuren des Giftes dieser Nachweis unsicher wird, kann ich diese Methode nur neben der von mir verwendeten und gelegentlich zu ihrer Bestätigung empfehlen. Wir kommen im Kapitel der Rizinuslipase auf das Rizinserum zurück.

Die Wirksamkeit des Antirizinserums kann man natürlich auch in umgekehrtem Sinne, d. h. zur Hemmung einer Rizinwirkung auf Blutkörperchen verwenden. Setzt man nämlich einem Gemisch von Blut und Rizinserum Rizin zu, so tritt keine Agglutination ein, selbst wenn man die volle Rizindose, welche ohne Rizinserum nötig wäre, verwendet.

Gerade mit Rücksicht auf die absprechende neueste Publikation von L. Lewin möchte ich noch das Urteil von Leonor Michaelis[3]) anführen. Er sagt geradezu: „Man kann die Versuche von Ehrlich als das eigentliche Fundament der Lehre von den Antikörpern bezeichnen.“ Ehrlich zeigte, dass zur vollkommenen Neutralisation einer bestimmten Rizinmenge im Reagenzglas eine bestimmte Menge Antirizin notwendig ist. Um die doppelte Rizinmenge zu neutralisieren, bedarf es genau der doppelten Menge Antirizin. Die Reagenzglasversuche Ehrlichs bewiesen, dass die Aufhebung der agglutinierenden Wirkung des Rizins auf Blutkörperchen durch Antirizinserum dem Gesetz der konstanten Proportion folgt und also kein Phantasiegebilde, wie Lewin zu glauben scheint, ist.

---

[1]) Eulenburgs Realenzyklopädie der gesamt. Heilkunde Bd. 12 (Wien 1912), S. 521.

[2]) Mitteilungen des Kaiser Wilhelm-Instituts für Landw. zu Bromberg Bd. 1, 1909, H. 3.

[3]) Die Bindungsgesetze von Toxin und Antitoxin (Berlin 1905), S. 2.

Mit der Ergründung der chemischen Natur des Antirizins hat sich namentlich M. Jacoby[1]) beschäftigt. Er fand, dass beim Zusammengiessen von Rizin mit gewöhnlichem Serum nur eine leichte Trübung, beim Zusammenbringen mit Antirizinserum aber eine flockige Fällung entsteht. Die Menge dieser Fällung ist viel grösser, als den unwägbar kleinen Mengen von Rizin und Antirizin entspricht, die dabei in Aktion treten. Jacoby nimmt daher an, dass bei dem Unlöslichwerden von Rizin + Antirizin auch „andere Bestandteile“ des Immunserums mit niedergerissen werden. Erst dadurch werde die Reaktion für unser Auge sichtbar. Ich meinerseits möchte die Tatsache, dass das Rizin-Antirizinkoagulum stets mehr Eiweiss einschliesst, als das zugesetzte Antirizin enthielt, den Schluss ziehen, dass das Rizin ein Eiweissstoff ist. Um dem über die Grösse des Koagulums im Unklaren befindlichen Leser eine Vorstellung zu verschaffen, führe ich folgende Versuche an:

Ich entfernte die Gesamtmenge des in einem Gramm meiner Rizinussamenkerne enthaltenen Öles. Der 0.35 g betragende Rückstand enthält nach Osborne 3.5 mg reines Rizin. Ich setzte zu 5 ccm Kochsalz, mit denen ich die 0.35 g Rückstand ausgezogen hatte, und in denen höchstens 3 mg Rizin sein konnten, 5 ccm Rizinserum und erhielt ein Koagulum, welches die gewaltige Ausdehnung von 10 ccm hatte.

Da die Ausdehnung eines weissen Niederschlages, den man auf schwarzer Unterlage im Uhrglas noch gerade deutlich soll sehen können, nicht über $^1/_{30}$ ccm gross zu sein braucht, so kann man, das lässt schon dieser erste Versuch vermuten, noch den 300. Teil der Rizinmenge, welche bei mir anwesend war, d. h. $\frac{3\text{ mg}}{300} = \frac{1\text{ mg}}{100}$ mit dem genannten Serum nachweisen. Das von mir benutzte Mercksche Rizinserum trug die Titerbezeichnung 1 : 40000, bezogen auf das Mercksche Handelspräparat. Es wird den Lesern dieser Arbeit nicht ohne Interesse sein, zu erfahren, dass, auf wirkliches Rizin bezogen, dieses Handelspräparat nach Ausweis meiner weiteren Versuche noch gerade benutzt werden kann, wenn in jedem Kubikzentimeter der zu untersuchenden Flüssigkeit 0.01 mg Rizin im Sinne von Osborne vorhanden ist. Der Titer der optischen Benutzbarkeit, auf wirkliches Rizin bezogen, ist also 1 : 100000 und nicht 1 : 40000.

[1]) Über Rizinimmunität. Hofmeisters Beiträge zur chem. Phys. u. Path. Bd. I (Braunschweig 1906), H. 1—2, S. 51.

Natürlich darf man beim Ablesen nicht nach dem Erfolg der ersten halben Minute sich richten, sondern muss ruhig abwarten, bis das Volumen des Niederschlags möglichst gross ist, was unter Umständen eine halbe Stunde, ja noch länger dauern kann. Versäumt man diesen günstigsten Moment, so zieht sich das Gerinnsel wieder zusammen. So schrumpfte selbst mein gewaltiger Niederschlag von 10 ccm Ausdehnung auf dem Filter allmählich fast bis zum Verschwinden zusammen.

Der Wichtigkeit der Reaktion wegen will ich noch einige Versuche anführen.

In einem zweiten Versuche versetzte ich den 3 ccm betragenden Auszug aus 120 mg entfettetem Samen mit 1 ccm Rizinserum und bekam sofort Trübung, die sich rasch in ein fast 4 ccm ausfüllendes weisses Gerinnsel umwandelte.

In einem dritten Versuche versetzte ich den auf 3 ccm verdünnten Auszug aus 12 mg entfettetem Samen mit 1 ccm Rizinserum und bekam bald ein 1 ccm an Volumen betragendes Gerinnsel.

In einem vierten Versuche versetzte ich den auf 3 ccm verdünnten Auszug aus 6 mg entfettetem Samen mit 1 ccm Rizinserum und erhielt ein Gerinnsel, dessen Volumen etwa einen halben Kubikzentimeter ausmachte.

In einem fünften Versuche versetzte ich den auf 3 ccm verdünnten Auszug aus 3 mg ölfreiem Samen mit 1 ccm Rizinserum und erhielt eine weisse Gerinnung, die nach dem Niedersinken im Reagenzglas doch gerade noch den Boden als weisser Niederschlag bedeckte und gegen dunkles Papier gehalten noch sehr gut sichtbar war. Man hatte den Eindruck, dass auch die Hälfte noch sicher als Niederschlag würde zu sehen gewesen sein.

In 3 mg Rizinuspresskuchen sind nach Osborne 0.03 mg Rizin enthalten. Der aus diesen sich mit 1 ccm Antirizin in 4 ccm Flüssigkeit bildende Niederschlag war also noch so deutlich, dass man sagen kann, auch 0.02 mg Rizin würde mit Rizinserum einen sichtbaren Niederschlag liefern. 0.02 mg zu 4 ccm entspricht aber einem Verhältnis von 1 : 200000; der Titer des Merckschen Rizinserums ist somit also mit 1 : 100000 von mir keineswegs zu hoch, sondern eher zu niedrig angesetzt. Das Filtrat war in allen Fällen frei von agglutinierenden Bestandteilen. Damit ist bewiesen, dass das Antirizin das Rizinagglutinin quantitativ niederschlägt. Der mit einem Tropfen Salzsäure zersetzte unsichtbare Niederschlag auf dem Filter ging beim ersten Versuch beim Waschen mit 0.9 %iger Kochsalzlösung in Lösung und zeigte nach dem Neutralisieren sowohl toxische Eigenschaften für ein Kaninchen als stark agglutinierende. Das Antirizin schlägt also sowohl

das im Rizin angenommene Agglutinin wie auch das darin angenommene Toxin nieder. Wenn beide eine einheitliche Substanz sind, wie ich behaupte, ist dies leicht verständlich. Wer meine Ansicht nicht teilt, ist absolut ausserstande zu erklären, warum der Organismus ein Antiagglutinin bildet, welches, wie man behauptet, „im Körper gar keine Rolle spielt und nur bei Kobertschen Reagenzglasversuchen in Aktion tritt". Doch ich kehre zur landläufigen Anschauung zurück. Wenn wir im Anschluss an Ehrlichs Nomenklatur das Antirizin als einen Rezeptor bezeichnen, so drückt sich die Ehrlichsche Schule so aus, dass das Rizin bei der Reaktion „mit seinen Rezeptoren andere eiweissartige Bestandteile des Serums mitreisst". In ganz analoger Weise reisst das Rizin bei Kontakt mit roten Blutkörperchen nicht nur deren Stroma, an dem, wie Stillmark schon 1887 fand, allein die Verankerung vor sich geht, sondern auch das davon eingeschlossene Hämoglobin mit nieder. Die zur Verankerung des Rizins nötigen Rezeptoren sind nach Jacobys Vermutung an den roten Blutkörperchen auch nur in minimaler Menge vorhanden, genügen aber zur vollen Wirkung. Jacoby fährt dann fort: „Wir hätten somit in der beobachteten Reaktion (einerseits im Serum, andererseits an den Blutkörperchen) einen Ausdruck der von Ehrlich als wesentlich für die Immunisation und die Antitoxinbildung angenommenen Rezeptorenwanderung aus den Zellen des Organismus in die Körperflüssigkeiten. Natürlich soll nicht behauptet werden, dass die bei den Immuntieren vorhandenen Serumrezeptoren aus den roten Blutkörperchen stammen." Logischerweise müsste man aber doch auf Grund der Ehrlichschen Theorie, wenn man wie die meisten Autoren das Rizinagglutinin nur auf rote Blutkörperchen, aber nicht auf andere Körperzellen wirken lassen will, die Rezeptoren als Produkte der vitalen Reaktion gerade der roten Blutkörperchen gegen das bei der Immunisierung eingeführte Rizin auffassen. Ich meinerseits stehe anders als die meisten Autoren. Ich glaube, dass das Rizin auf alle lipoidreichen Zellen des Organismus einwirkt, und kann daher leicht zugeben, dass das Antirizin nicht von den roten Blutkörperchen, oder wenigstens nicht von ihnen allein produziert zu sein braucht. Ich komme im Kapitel der Rizinwirkung auf das ganze Tier darauf zurück. Zum Schluss der Besprechung über die Rezeptoren der roten Blutkörperchen für die Rizinverankerung sei noch

bemerkt, dass nach Raubitschek und Wilenko[1]) den roten Blutkörperchen aber gleichzeitig noch andere Rezeptoren für die Verankerung anderer, nicht zu den Phytoagglutininen gehöriger Substanzen zukommen. Die Genannten konnten nämlich zeigen, dass die mit Rizin gesättigten Blutkörperchen noch imstande waren, Serumagglutinine zu verankern.

Natürlich lässt sich, auch wenn man von der Ehrlichschen Theorie ganz absieht, über die Einwirkung des Rizins auf die roten Blutkörperchen etwas aussagen. Nach L. v. Liebermann[2]) hat das Rizin chemisch den Charakter einer Säure. Die Rizinagglutination kommt in der Weise zustande, dass das Rizin als Säure mit dem Stroma der roten Blutkörperchen, das ja auch dem Hämoglobin gegenüber die Rolle einer Base spielt, eine chemische Verbindung eingeht, die aus der Flüssigkeit rasch ausfällt. Diese Verbindung ist durch destilliertes Wasser nicht zersetzbar; das Wasser löst nur aus ihr wie aus intakten roten Blutkörperchen das Hämoglobin, welches jetzt ja nicht mehr an das Stroma gebunden ist, leicht heraus. Behandelt man das rizinsaure Stroma mit einer stärkeren Säure, z. B. mit einem Tropfen verdünnter Salzsäure, so bildet sich bei den oben (S. 11) besprochenen Versuchen salzsaures Stroma und das Rizin als schwächere Säure wird frei und kann nach vorheriger Neutralisation abfiltriert werden. Auf diese von mir nicht nur für Rizin, sondern auch für viele andere vegetabilische Agglutinantien oft nachgeprüfte Tatsache werden wir unten noch wiederholt zurückkommen. Dass sie für den Nachweis des Rizins in Futterkuchen von grösster Wichtigkeit ist, haben wir ja schon oben gesehen.

Die Forschungen der letzten Jahre haben ergeben, dass alle Stoffe, die Immunität hervorrufen können, bei zwei durch ein langes Intervall getrennten Einspritzungen umgekehrt wirken, d. h. Anaphylaxie auslösen. Auch dieser Satz gilt für das Rizin; ja Kurt Schern[3]) (unter Uhlenhuth) hat geradezu Rizin in Futterkuchen dadurch nachgewiesen, dass er Tieren,

[1]) Zur Kenntnis der haptophoren Gruppen der agglutinabeln Substanz. Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 11, 1911, S. 375.

[2]) Über Hämagglutination und Hämatolyse. Arch. f. Hygiene Bd. 62, 1907, S. 279.

[3]) Berliner Tierärztl. Wochenschr. 1911, No. 7. — Arch. f. wissensch. u. prakt. Tierheilk. Bd. 36, 1910, Suppl. S. 590.

welche vorher eine Rizininjektion erhalten hatten, nach einigen Wochen einen Auszug der fraglichen Futterkuchen ins Blut einspritzte. Falls anaphylaktische Erscheinungen auftraten, schloss er auf Anwesenheit von Rizin. Bei der grossen Schwierigkeit der Ausführung und der Deutung anaphylaktischer Versuche scheint mir diese Methode zur allgemeinen Einführung noch nicht reif, namentlich da auch sämtliche Eiweissstoffe der ungiftigen Futterkuchen, ja nach Uhlenhuth und Haendel[1]) selbst die ungiftigen Fette der Futtermittel (Leinöl, Rüböl, Kokosöl usw.) Anaphylaxie auszulösen imstande sind.

Alle bisher besprochenen Eigenschaften und Wirkungen des Rizins sind von verschiedenen Autoren herangezogen worden, um seine Toxinnatur zu beweisen, und in der Tat ist seine Ähnlichkeit mit bakteriellen Toxinen unbestreitbar. Wie ich nun schon oben erwähnt habe, ist von anderer Seite, und zwar zuerst von Stillmark, später z. B. von Oppenheimer[2]) betont worden, dass es auch mit ungeformten Fermenten verglichen werden kann. L. v. Liebermann[3]) hat daraufhin eingehende Studien über diese Frage angestellt und beantwortet sie dahin, dass sowohl die Toxine im allgemeinen als das Rizin im besonderen sicher keine Enzyme sind. Nun ist die Frage aber insofern doch etwas komplizierter, als man nach Liebermanns Artikel meinen sollte, da im Rizinussamen unzweifelhaft eine echte Lipase von ausserordentlich starker fermentativer Wirkung enthalten ist. Gerade diese ist auf etwaige agglutinierende Wirkung noch nie eingehend untersucht worden. Ich werde ihr daher weiter unten ein besonderes Kapitel widmen und komme dabei auf ihre Beziehungen zum Rizin zurück. Hier mögen nur noch die nach meiner Meinung sehr wichtigen Versuche von C. Neuberg[4]) Berücksichtigung finden. Neuberg

---

[1]) Über die praktische Verwertbarkeit der Anaphylaxie zur Erkennung und Unterscheidung verschiedener Eiweissarten. Zeitschr. f. Immunitäts-Forsch. Bd. 4, Heft 6. Zitiert nach E. Friedberger, Die Anaphylaxie. In Fortschritte der Deutschen Klinik Bd 2, 1911.

[2]) Die Fermente und ihre Wirkungen. II. Aufl. (Berlin 1903), S. 61 bis 66. — Derselbe, Über Toxine und Antitoxine, 1904, S. 3, 11, 12.

[3]) Sind Toxine Fermente? Deutsche med. Wochenschr. 1905, No. 33.

[4]) Lipolyse, Agglutination und Hämolyse. Biochem. Zeitschr. Bd. 11, 1908, S. 401. Vergl. auch C. Neuberg und E. Rosenberg, Berliner klin. Wochenschr. 1907, No. 2.

fand, dass Rizinlösungen stets die Fähigkeit besitzen, Fette und Lezithine hydrolytisch zu spalten. Er versuchte nun das fett- und lezithinspaltende Enzym von dem agglutinierenden Prinzipe abzutrennen. Er versuchte dies vergeblich zunächst mit Hilfe von Schütteln mit Kohle und mit Kaolin. Stets wurden beide aktive Prinzipien zusammen adsorbiert. Weiter benutzte er Fibrinflocken, die nach CUSHNY[1]) und M. JACOBY[2]) das Rizin auf sich fixieren. Stets fand er dabei in der Flüssigkeit entsprechend der Abnahme an Rizin auch eine solche an Lipase. Endlich trug er in die Rizinlösung rote Blutkörperchen ein, musste aber auch hier konstatieren, dass diese gleichzeitig mit dem Agglutinin auch die Lipase verankerten. Er schliesst mit den Worten: „Die Frage, ob die Lipolyse ein Teilvorgang der Agglutination ist, bleibt nach wie vor offen. Wie aber auch ihre Beantwortung schliesslich ausfallen mag, wird man selbst einem zufälligen Zusammengehen beider Vorgänge in Zukunft erhöhte Bedeutung beimessen müssen. Denn die Erfahrungen der letzten Jahre haben gezeigt, dass an den Immunitätserscheinungen Fette, Lipoide und Seifen einen unverkennbaren Anteil haben. Bei dieser Sachlage ist es selbstverständlich, dass die spezifischen Fermente der Fett- und Lipoidsubstanzen, die Lipasen, welche zugleich typische Seifenbildner sind, bei den Immunitätserscheinungen eine wichtige Rolle spielen können.“ NEUBERG deutet damit an, dass auch bei der Entstehung des Antirizins das lipolytische Vermögen des Rizins bezw. die neben dem Rizin vorhandene Lipase mitwirkt.

Der letzte Autor, welcher sich mit der Frage, ob das Rizin an sich lipolytisch wirkt, beschäftigt hat, ist LAFAYETTE MENDEL.[3]) Er fand, dass sehr sorgfältig nach der Methode von OSBORNE, MENDEL und HARRIS gereinigtes Rizin keine lipolytischen Eigenschaften mehr besitzt. Unter solchen Umständen wäre es von Wichtigkeit, die durch NEUBERG angeregte Frage experimentell zu prüfen, nämlich ob solches lipasefreies Rizin Immunität hervorzurufen imstande ist. Mich veranlassen die MENDELschen Versuche das, was ich über die

[1]) Arch. f. exp. Pathol. Bd. 41, 1898, S. 439.

[2]) HOFMEISTERS Beiträge Bd. 1, 1902, S. 51 und Bd. 2, 1902, S. 535.

[3]) Is Haemagglutination due to Lipase? Archivio di Fisiologia vol. 7, 1909, p. 172.

Lipase zu sagen habe, in einem besonderen Kapitel zu besprechen.

Ich habe jetzt noch anzugeben, wie stark das Rizin auf die verschiedenen Blutarten einwirkt. Um die mit Rizinussamen gemachten Versuche auf reines Rizin umrechnen zu können, sind folgende Angaben von Wichtigkeit. Die Rizinusfruchtkapseln und die Samenschalen sind frei von Rizin. Frisch geerntete Samen kleinen Kalibers haben folgende Zusammensetzung:

Samenschale	25—29 %,
Kernsubstanz	71—75 „ .

Die frische Kernsubstanz enthält:

Fettes Öl	50—65 %.

In den von mir benutzten Samen betrug sie nie unter 60 %.

Die Presskuchen der geschälten Samen enthalten nach Tschirch, abgesehen von Asche (10.50 %), Fettresten (8.75 %) und Wasser (10.38 %), an Stickstoffsubstanz 46.37 % und an stickstofffreier Substanz 24.00 %. Die den Aleuronkörnern entstammenden Eiweisskörper bestehen aus viel Globulinen, Nukleoalbuminen, einem Glykoprotein und wenig Albumin. Die Menge des zu den Albuminen gehörigen, ja höchstwahrscheinlich die einzige Albuminsubstanz der Presskuchen vorstellenden Rizins beträgt nach Osborne 1 %. Diese Zahl wird bei der Berechnung des Rizins in der unten folgenden Tabelle zugrunde gelegt werden.

Von besonderen Rizinusarten bezw. -varietäten, die ich geprüft habe, nenne ich Ricinus niger, ruber und albus, die mir in liebenswürdiger Weise aus Amani frisch zugeschickt wurden, sowie Ricinus spectabilis aus Indien. Keine dieser Spielarten ist frei von Rizin. Die von mir für gewöhnlich benutzten kleinen indischen Samen waren mehrere Jahre alt und ungemein ölreich. Von diesen ist in meinen Versuchen immer die Rede, falls ich nichts anderes angebe. Ich habe bei diesen die Presskuchenmenge für gewöhnlich zu 50 % der Kerne gerechnet, obschon sie stets weniger als 50 % ausmachte. In allen meinen Berechnungen auf Rizin beträgt die wirkliche Rizinmenge also stets noch etwas weniger, als ich in der Berechnung angebe. Dosen, welche die zur Agglutination nötige um das Vielfache übersteigen, machen leicht Hämolyse, namentlich falls lipoidreiche

Presskuchenauszüge anwesend sind. Ziegenblut liess sich nicht in die Tabelle aufnehmen, da kleine Dosen Rizin darauf gar nicht wirken und grosse gleich Hämolyse verursachen. Ziegenblutkörperchen dagegen sind eingereiht.

Tabelle I.

Vergleichende Übersicht über die Einwirkung der Rizinusauszüge auf verschiedene 1—2 %ige Blutarten.

Nummer	Tierart:	Totale feste Agglutination erfolgte gerade noch		
		berechnet auf nicht entölte **Samenkerne** bei 1:	berechnet auf ölfreien **Presskuchen** bei 1:	berechnet auf reines **Rizin** bei 1:
1	Taubenblut	50000	100000	10000000
2	Meerschweinchenblut . .	50000	100000	10000000
3	Hundeblutkörperchen . .	20000	40000	4000000
4	Ziegenblutkörperchen . .	20000	40000	4000000
5	Menschenblut vom Erwachs.	10000	20000	2000000
6	Menschenblut vom Neugeb.	10000	20000	2000000
7	Katzenblutkörperchen . .	10000	20000	2000000
8	Rattenblut	10000	20000	2000000
9	Kaninchenblut	10000	20000	2000000
10	Hühnerblut	10000	20000	2000000
11	Schweineblut	5000	10000	1000000
12	Hammelblut	2000	4000	400000
13	Rinderblut	2000	4000	400000
14	Froschblut (Rana esculenta)	2000	4000	400000
15	Krötenblut (Bufo cinereus)	2000	4000	400000
16	Seehasenblut (Cyclopterus Lumpus)	2000	4000	400000
17	Igelblut	1000	2000	200000
18	Pferdeblutkörperchen . .	1000	2000	200000

III. Über die Rizinuslipase und ihre Wirkung.

Schon 1889 beobachtete Green[1]) und unabhängig von ihm Siegmond[2]), dass beim Verreiben ölhaltiger Pflanzensamen mit Wasser sich freie Fettsäuren, wenn auch nur in geringer Menge bildeten, und schlossen daraus ganz richtig, dass ein fettspaltendes unorganisiertes Ferment, also eine Lipase, in diesen Samen vorhanden sein müsse. Erst nach diesen Entdeckungen besann

[1]) Proceed. Roy. Soc. 48, 1890, p. 370.
[2]) Wiener Monatshefte f. Chem. 11, 1890, S. 272.

man sich allgemein wieder darauf, dass Pelouze[1]) schon 1855 einwandfrei nachgewiesen hatte, dass beim Zerstossen ölhaltiger Samen Glyzerin und Fettsäuren frei werden, und dass Schützenberger 1876 diese Angaben nachgeprüft und bestätigt hatte. Ja Schützenberger hat auch bereits klar und deutlich ausgesprochen, dass diese hydrolytische Spaltung auf einem pflanzlichen Fermente beruhe. Die Entdeckung dieser Lipase in den uns hier interessierenden Rizinussamen kommt Green[2]) zu. Seine Untersuchungen zeigen, dass in den ruhenden Rizinussamen das Enzym nicht fertig gebildet vorhanden ist, sondern nur eine Fermentmuttersubstanz, ein Enzymogen. Lässt man das Samenpulver einige Stunden bei 35° in Gegenwart verdünnter Essigsäure stehen, so geht dass Enzymogen in Lipase über und die Flüssigkeit ist nun imstande, lipolytisch zu wirken. Vor jetzt gerade 10 Jahren erschien über diesen Gegenstand eine sehr ausführliche Arbeit von Connstein, Hoyer und Wartenberg[3]), der die ausgesprochene Absicht zugrunde lag, dieses Fettspaltungsverfahren technisch zu verwerten. Sie bestätigten die Notwendigkeit der sauren Reaktion, die sowohl durch organische als durch unorganische Säuren herbeigeführt sein darf. Nach Ad. Walter[4]) hat sich auf Grund dieser Arbeiten das lipatische Fettspaltungsverfahren in der Technik so gut eingeführt, dass nach der letzten Statistik jährlich 30 Millionen Kilogramm Fette und Öle damit in Fettsäuren und Glyzerin zerlegt worden sind. Dies will, da ja auch das Twichell-Verfahren in den letzten Jahren zahlreiche Anhänger gewonnen hat, und daher der Lipase das Terrain streitig macht, recht viel sagen. Dem zu spaltenden Fett sind bei dem lipatischen Verfahren 30—40 % Wasser und 5 % gut zermahlene schalenfreie Rizinussamen sowie 0.06 % konzentrierte Essigsäure nach den ursprünglichen Angaben der genannten Autoren zuzusetzen. Durch neuere Arbeiten von Connstein und Hoyer ist es gelungen, ein an Lipase den Samen gegenüber angereichertes Präparat in den Handel zu bringen, wodurch die Fettspaltung sich noch vorteilhafter und einfacher gestaltet hat. Dieses

[1]) Annales de Chimie et de Physique 3ème sér. Tome 45, 1855, p. 319.
[2]) Green l. c.
[3]) Ber. d. Deutschen Chem. Ges. Jahrg. 35, 1902, S. 3988.
[4]) Zeitschr. f. angewandte Chemie Jahrg. 24, 1911, Heft 9, S. 385.

Präparat, „Ferment“ genannt, wird in nachfolgender Weise dargestellt. Der geschälte Rizinussamen wird in einer Mühle mit Wasser fein vermahlen und die gebildete Samenmilch durch Passieren einer Überlaufzentrifuge mit hoher Umdrehungszahl von den zurückgehaltenen lipolytisch unwirksamen Bestandteilen des Samens getrennt. Die abfliessende Emulsion enthält das Rizinnsöl in emulgiertem Zustande mit den gesamten Eiweissstoffen des Protoplasmas, darunter auch das fettspaltende Enzym. Man überlässt die Emulsion bei 24° einem Gärungsprozess, wobei sich das angereicherte Ferment als dicke Sahne an der Oberfläche des sauren Unterwassers absetzt und so durch einfaches Dekantieren leicht gewonnen werden kann. Das so erhaltene sahneartige konzentrierte Ferment besteht zur Hauptsache aus etwa 38 % Rizinusölsäure, 4 % Eiweisskörpern resp. fester Masse und 58 % Wasser. Es enthält eine genügende Menge durch die Gärung entstandener freier Säure, grösstenteils Essig- und Buttersäure, um den Spaltungsprozess bei den Fetten und Ölen ohne weiteren Zusatz von Mineralsäure in wünschenswerter Weise zu beschleunigen.

Unter Verbesserung der Angaben von Nicloux[1]) hat Y. W. Jalander[2]) eine Vorschrift der Darstellung der Lipase für wissenschaftliche Zwecke ausgearbeitet, nach der auch die von mir benutzte Lipase frisch dargestellt wurde. Die Vorschrift lautet:

200 g geschälte Rizinussamen werden möglichst fein zerstossen und mit 250 g Cottonöl innig verrieben. Das Gemisch wird in einem Leinbeutel von gröberen Teilen dadurch getrennt, dass man den Beutel unter gleichzeitigem Drücken gegen einen scharfen Rand, z. B. einen Trichterrand, reibt. Die so erhaltene trübe Mischung wird in einer Zentrifuge mit einer Geschwindigkeit von 1000 Umdrehungen pro Minute zwei Stunden lang zentrifugiert. Hierbei setzen sich die unwirksamen gröberen Bestandteile ab, während der lipolytische Stoff in Aufschlämmung bleibt. Man erhält zwischen 230—250 g Aufschlämmung. Diese wird entölt, indem man zuerst der Aufschlämmung das gleiche Volumen Petroläther zumischt und absetzen lässt. Nach dem

[1]) Contributions à l'étude de la saponification des corps gras. Paris 1906.

[2]) Zur Kenntnis der Rizinnslipase. Biochem. Zeitschr. Bd. 36, 1911, Heft 5—6, S. 435.

Dekantieren wird der das Enzym enthaltende Bodensatz durch wiederholtes Mischen mit Petroläther und Dekantieren vollständig entölt. Wenn man von Anfang an eine wesentlich grössere als die angegebene Menge Petroläther zugibt, erhält man eine grossflockige schwere Fällung, die sich zu einer schleimigen zähen Masse zusammenballt und nachher durch Petroläther nicht mehr vollständig von Öl zu befreien ist. Das Enzym scheint eine besondere Fähigkeit zu besitzen, das Öl festzuhalten, denn die letzten, dem Enzym anhaftenden Fettspuren sind verhältnismässig schwer zu entfernen. Die erhaltene Trockenmenge des Enzyms schwankte bei Jalander zwischen 2.5—3.0 % der verarbeiteten Rizinussamenmenge. In meinem Falle wurden nur 2.3 % Ausbeute erhalten, bestehend in einem weissen Pulver. Dieses besitzt in hohem Grade die Eigenschaft, welche auch der Staub der gepulverten Rizinussamen besitzt, die nämlich, die Schleimhäute der Augen und der Nase heftig zu reizen. Ehe ich über meine Versuche damit berichte, möchte ich noch zweier anderer Autoren, die sich mit der Lipase beschäftigt haben, Erwähnung tun.

Alonzo Englebert Taylor[1]) hat gefunden, dass beim Entfetten der Rizinussamen mit Äther die Lipase quantitativ mit in den Äther übergeht, während sie im fettfreien Zustande in Äther vollständig unlöslich ist. Schüttelt man den lipasehaltigen Äther mit Wasser, so geht ein Teil der Lipase trübe gelöst in das Wasser über. Filtriert man dieses, so geht die Hauptmenge der Lipase verloren, da sie vom Filter zurückgehalten wird. Die Rizinussamen enthalten nach Taylor ausser Lipase auch noch andere Fermente, nämlich auch noch eine Amylase, eine Invertase, eine Maltase und ein Endotrypsin. Die Trennung der Lipase von den Eiweissstoffen der Samen ist nach Taylor möglich aber nicht ratsam, da sie sonst durch das Endotrypsin zerstört wird. Das Pulver der Lipase bildet eine trübe Suspension; bei wiederholter Filtration wird sie quantitativ der Lösung entzogen. Die Lipase ist nicht nur imstande, Neutralfette zu zerlegen, sondern auch aus Glyzerin und Fettsäuren aufzubauen. Jalander hat diese Angaben Taylors bestätigt.

[1]) Journ. of Biolog. Chem. 2, 1906, S. 87.

S. Fokin[1]) behauptet, dass alle Lipase enthaltenden Samen giftig seien. Die Samen von Abrus, dessen Abrin dem Riziu so nahe verwandt ist, sind nach Fokin jedoch frei von Lipase. Während man nach Taylor glauben sollte, dass entfettete Rizinussamen kaum noch lipatisch wirken, vermag nach Fokin 1 Teil geschälter unentölter Rizinussamen 125 Teile Fett zu verseifen, ein Teil völlig entfettetes Samenmehl aber 375 Teile. Da beim Entfetten die Lipoide des Rizinussamens zum grössten Teil mit entfernt werden, hat die Lipase also nach Fokin mit den Lipoiden keinen Zusammenhang, könnte aber sehr wohl dem Rizin nahe stehen oder mit ihm identisch sein.

In einem landwirtschaftlichen Interessen gewidmeten Fachblatte fühle ich mich verpflichtet, auf die aus der Einführung des Rizinusverseifungsverfahrens in den Betrieb der kleinen Seifensiedereien der Landwirtschaft erwachsende Gefahr hinzuweisen. Ich habe schon vor 10 Jahren, als dieses Verfahren aufkam, im „Tag“ die Öffentlichkeit darauf aufmerksam gemacht, dass das Mahlen von Rizinussamen und das Versenden dieses Pulvers in Kisten oder Säcken äusserst bedenklich ist. Vieh, welches aus einem Trog säuft, in welchem solche Säcke ausgewaschen worden sind, geht zugrunde. Kraftfuttermehl, welches aus einer Mühle stammt, in der vorher Rizinus gemahlen ist, wirkt giftig. Die neben den Rizinusmehlsäcken im Eisenbahnwagen oder sonst wo lagernden Futtermittel können ebenfalls schädliche Eigenschaften annehmen. Dass auch das Personal, welches mit dem Rizinusstaub in Berührung kommt, Gefahr läuft, an Augenentzündung, Nasen- und Halskatarrhen usw. zu erkranken, ist selbstverständlich.

Die nach dem Jalanderschen Verfahren für meine Zwecke gewonnene Rizinuslipase ist nicht nur imstande, sehr energisch Neutralfette zu spalten, sondern auch Synthesen von Neutralfett aus den Komponenten auszuführen. Sie ist also in jeder Beziehung ein echtes, stark wirksames Ferment. Ihr Aschengehalt beträgt 3.29 %. Da in der Literatur sich über Verhalten der Lipase zu Blut keine Angaben finden, machte ich selbst solche Versuche. Da diese Lipase nicht eigentlich auf chemischem Wege, sondern nur auf mehr mechanischem aus dem Rizinus-

[1]) Chem. Revue der Fett- und Harzindustrie 13, 1906, Juni bis August.

samen abgeschieden worden ist, vergleiche ich sie in der nachstehenden Tabelle mit ölfreiem Samenpresskuchen.

Tabelle II.

Vergleich der Wirkung der nach Jalander dargestellten Lipase und der entölten Samen.

Nummer	Blutart:	Totale Agglutination erfolgt durch	
		Lipase bei 1:	ölfreie Samen bei 1:
1	Meerschweinchenblut . .	82 500	100 000
2	Taubenblut	23 600	100 000
3	Menschenblut	13 000	20 000
4	Schweineblut	11 254	10 000
5	Seehasenblut	9 900	4 000
6	Kaninchenblut	8 250	20 000
7	Katzenkörperchen	6 666	20 000
8	Ziegenkörperchen	6 666	40 000
9	Hundeblut	keine Wirkung	40 000
10	Hühnerblut	„ „	20 000
11	Rinderblut	„ „	4 000
12	Hammelblut	„ „	4 000
13	Igelblut	„ „	2 000
14	Pferdekörperchen	„ „	2 000

Ein Blick auf diese Tabelle zeigt, dass Rizin und nach Jalander dargestellte Rizinuslipase auf keinen Fall identisch sind, dass aber beiden Stoffen agglutinierende Wirkung auf eine Reihe von Blutarten zukommt. Wäre diese Wirkung der Lipase lediglich durch anhängendes Rizin bedingt, so müsste die Wirkung der Lipase proportional ihrem Rizingehalte und also z. B. auf Meerschweinchenblut und Taubenblut identisch sein, da das Rizin auf beide identisch wirkt. Dies ist aber keineswegs der Fall; vielmehr wirkt die Lipase auf Meerschweinchenblut viel stärker als auf Taubenblut. Auch betreffs der übrigen Blutarten besteht keine Kongruenz, abgesehen davon, dass kleine Dosen sowohl von Rizin als von Lipase auf Ziegenblut gar nicht wirken, während grosse Hämolyse veranlassen. Ziegenkörperchen werden dagegen sowohl von Rizin als von dem Lipasepräparat agglutiniert. Ich muss daher aus meinen Versuchen schliessen, dass im Jalanderschen Präparate die Lipase mit Rizin innig verbunden ist, dass aber eine reine Rizinwirkung auf Blut sich nicht entfalten kann sondern nur eine in unberechenbarer Weise modi-

fizierte. Eine Trennung der Lipase vom Rizin in den Lösungen des Jalanderschen Präparates mit Hilfe von Blutkörperchen gelang mir ebensowenig, als es in den S. 19 erwähnten Versuchen Neuberg gelungen ist. Stets verschwand aus der Lösung gleichzeitig die Hauptmenge des Rizins und der Lipase. Bei Zusatz von Antirizinserum zu einer 0.1 %igen neutralen Lösung der Jalanderschen Lipase erhält man einen langsam sich bildenden aber beträchtlichen Niederschlag, der keineswegs nur das Rizin enthält, sondern auch beträchtliche Mengen der Lipase. Das Filtrat wirkte weder agglutinierend noch toxisch noch deutlich lipatisch. Subkutan tötet die Jalandersche Lipase ohne Rizinserum Kaninchen so sicher und unter denselben — im nächsten Kapitel näher zu erörternden — Erscheinungen wie das Rizin, nur braucht man grössere Mengen. Ich werde im folgenden Kapitel (S. 31) den Sektionsbefund nach einer grossen Dose Lipase mitteilen; hier würde er zunächst nicht verständlich sein. Hier sei nur im voraus bemerkt, dass er durchaus eindeutig ist und nur auf Rizin oder ein dem Rizin analoges Gift bezogen werden kann.

Ich habe auch nach der Taylorschen Methode Rizinussamenbrei mit Äther extrahiert und die ätherische Lösung nach einmaliger Filtration mit physiol. Kochsalzlösung ausgeschüttelt. Nachdem ich bei 33° den Äther verdunstet hatte, prüfte ich die Flüssigkeit auf agglutinierende Wirkung mit Hilfe von 5 gerade zur Verfügung stehenden passenden Blutarten, bekam aber keine Agglutination. Aber auch der Beweis, dass die Flüssigkeit Lipase oder überhaupt irgend etwas Organisches in merkbaren Mengen enthielt, war nicht zu erbringen. Ich fasse zum Schluss meine Erfahrungen über die Rizinuslipase in folgendem Satze zusammen. Nach Taylor bekam ich überhaupt nichts Greifbares. Dies ist insofern nicht befremdlich, als dieser Autor selbst sagt, dass Filtration die Wirksamkeit schwer beeinträchtigt, da sie die Hauptmenge des Fermentes zurückhält. Ohne Filtration würden aber die geringsten suspendierten Rizinuspartikelchen mir ein falsches Ergebnis geliefert haben. Nach der Jalanderschen Methode erhält man ein brauchbares feinpulveriges, weisses Präparat, welches zu lipatischen Zwecken vorzüglich brauchbar ist, das aber auch die agglutinierenden und toxischen Eigenschaften des Rizins besitzt und weder durch Blutkörperchen noch

durch Antirizinserum vom Rizin getrennt werden kann. Die in der Presse mehrfach aufgestellte Behauptung, das lipatische Rizinus-Ferment habe gar nichts mit Rizin zu tun und sei ungiftig, ist also nach wie vor unbewiesen, ja wohl unbeweisbar. Als vorstehendes schon gesetzt war, wurde eine neue relativ einfache Methode der Lipasedarstellung veröffentlicht. Herr Wakulenko hat darüber in meinem Institute Versuche angestellt, die demnächst veröffentlicht werden.

IV. Über die Wirkung des Rizins auf Tiere.

Bei innerlicher Darreichung wird das Rizin nur zum Teil, aber immerhin doch merkbar durch die Verdauungsenzyme entgiftet. Natürlich ist die entgiftende Kraft der Verdauungsorgane nicht bei allen Tieren gleich gross. Setzt man die Empfindlichkeit, in ganzen Zahlen ausgedrückt, pro Kilo Tier bei innerlicher Darreichung, für das Kaninchen gleich 100, so ist die der Ente und des Hahnes gleich 5; dazwischen liegen Schwein, Hund, Pferd, Ochs, Hammel. Diese Anordnung beruht auf Fütterungsversuchen von Cornevin.[1]) Auf die von Birbaum komme ich später zu sprechen. Der grössere Teil des nicht durch die Verdauung entgifteten Rizins wird resorbiert, wenn auch nur langsam, und kreist mit dem Blute. Während Rizin mit 50—100 fach verdünntem Blute die oben beschriebenen Agglutinationserscheinungen zeigt, ist das unverdünnte Blut durch sein Plasma vor der Wirkung des Giftes, falls es nicht in enormen Dosen vorhanden ist, geschützt. Das Gift gelangt auf diese Weise mit dem Blute in alle Organe und verankert sich offenbar in den durch keine umgebende reichliche Plasmamenge geschützten wichtigen Zellen des Zentralnervensystems und lähmt diese. Grobe anatomische Veränderungen braucht es hier nicht hervorzurufen. So kommt es, dass nach eben gerade tödlicher Dose die Tiere bei der Sektion keinerlei Veränderungen zu zeigen brauchen. Was die Symptome vor dem Tode anlangt, so können bei Kaninchen und Meerschweinchen bisweilen vor dem Tode Erregungserscheinungen, ja heftige Konvulsionen auftreten, während in anderen Fällen gar keine Erregung beobachtet wird, obwohl die Dose genau dieselbe war.

---

[1]) Annales agronomiques T. 23, 1898, S. 289. Mir leider nicht zugängig.

Die den Tod bedingende Verankerung in den Ganglienzellen ist wohl der in den roten Blutkörperchen analog, d. h. sie dürfte durch die Lipoide zustande kommen. Falls das Gift unter die Haut gespritzt worden war, genügt eine hundertmal kleinere Dose als bei innerlicher Eingabe, um den Tod herbeizuführen, weil die Gesamtmenge mit einem Male den Organismus überschwemmt und nicht zerstört wird. Aber selbst in diesem Falle erfordert die auf die Verankerung folgende Lahmlegung der Zentra der Atmung und der Vasomotorentätigkeit Zeit. Bei gerade eben tödlicher Dose können nach der subkutanen Einspritzung 2—5 Tage vergehen, ehe das Tier der Vergiftung erliegt. Selbst nach der intravenösen Einführung der eben tödlichen Dose ist ein längeres Inkubationsstadium wahrnehmbar. An der Stelle der Einspritzung unter die Haut tritt bei Meerschweinchen ausnahmslos eine Nekrose, also ein Absterben der benachbarten Gewebsteile ein. Diese kleine Nekrose ist so charakteristisch, dass man sie zur Identifizierung selbst von Bruchteilen eines Milligrammes Rizin vortrefflich mit verwerten kann. Bei Kaninchen tritt statt der Nekrose ein lokales Ödem oft von beträchtlicher Ausdehnung ein. Im Bereich dieses Ödems können einzelne kleine Venen thrombosiert sein. Auch kleine Blutaustritte im Bereich des Ödems sind nicht selten. Weitere Veränderungen hängen mit der Ausscheidung des Giftes zusammen. Es wird nach seinem Kreisen im Blute offenbar teils durch die Schleimhaut des Magendarmkanales und teils durch die Niere ausgeschieden und kann in beiden Organen Alterationen hinterlassen.

Es ist hier nicht der Ort, auf die mikroskopischen Einzelheiten allzu genau einzugehen. Diese sind schon bald nach dem Bekanntwerden des Rizins durch H. J. Berkley,[1]) Flexner,[2]) durch Gonçalves Cruz,[3]) durch Franz

[1]) Experimental lesions produced by the action of ricin on the cortical nerve cells of the Guinea pig's and rabbit's brain; the effect of acute ricin poisoning. Medical Record (New York), march 7. 1896.

[2]) The histological changes produced by ricin and abrin intoxications. Ebenda march 1897. Vgl. derselbe, The pathology of toxalbumin intoxication. John Hopkins Hospital Reports vol. 6, 1896.

[3]) Étude toxicologique de la ricine. Extrait des Annales d'hygiène publ. et de Méd. légale 1898. Derselbe, Les altérations histologique dans

Müller[1]) und andere eingehend studiert worden. Uns interessiert hier nur das folgende:

Was den Magendarmkanal anlangt, so sind Infiltration der lymphatischen Apparate im Wurmfortsatz, der Peyerschen Plaques, der mesenterialen und der retroperitonealen Lymphknoten selbst nach nur wenig überletalen Dosen wahrgenommen worden. Nach nur gerade noch tödlichen Dosen können sie allerdings ganz fehlen. Macht man in diese geschwollenen und geröteten, zum Teil von kleinen Blutaustritten durchsetzten Gebilde einen Schnitt, so entleert sich etwas Flüssigkeit von rötlicher Farbe. Mikroskopisch zeigt sich der ganze lymphatische Apparat eigenartig verändert; doch kann an dieser Stelle darauf nicht eingegangen werden. War die Dosis grösser, so finden sich im Netz einzelne Blutaustritte, von denen jeder einzelne nur stecknadelkopfgross zu sein braucht, die aber zu vielen Dutzenden sich finden und konfluieren können. War die Dosis noch grösser, so erscheinen grosse Strecken der Magendarmschleimhaut blutig gerötet; aber das Blut sitzt nicht nur in den stark erweiterten Gefässen und Kapillaren der Schleimhaut, sondern es findet sich auch im Gewebe und im Lumen des Darmes. Bei noch grösseren Dosen können ausgedehnte Flächen des Dünn- und Dickdarms einen Eindruck, wie bei roter Ruhr, machen, d. h. ulcerös hämorrhagisch zerstört sein. Dies gilt namentlich für Fleischfresser.

Bei Pflanzenfressern prävalieren die Dünndarmveränderungen. Es ist sehr naheliegend, die Blutaustritte durch Klumpenbildung in den Gefässen erklären zu wollen. Mikroskopisch hat sich dies bisher noch nicht mit Sicherheit beweisen lassen. Wohl aber steht fest, dass in abgeklemmte Gefässe eingespritztes Rizin hier wohl Agglutination und Bildung schon makroskopisch sichtbarer Klumpen hervorruft. Es ist nun wohl denkbar, dass in entzündeten Darmschleimhautabschnitten, wo schon durch die Entzündung die Gefässe erweitert und der Blutfluss enorm verlangsamt sein kann, minimale Agglutinationen und dadurch bedingte Kapillarverlegungen entstehen, die mikroskopisch nur schwer zu sehen sind.

---

l'empoisonnement par la ricine. Arch. de Médecine exp. et de l'Anat. pathol., mars 1899, No. 2.

[1]) Über einige patholog.-anat. Befunde bei der Rizinvergiftung. Zieglers Beiträge Bd. 27, 1900, S. 331.

Man hat die entzündlichen Darmveränderungen mit Recht mit der Ausscheidung des Giftes durch dieses Organ in Zusammenhang gebracht. M. A. Stepanoff[1]) konnte das ausgeschiedene Rizin im Darminhalt der Warmblüter nachweisen. Cushny[2]) hat selbst bei Fröschen die Ausscheidung durch den Magen dargetan. Diese Tiere bekommen nach der Subkutaninjektion grosser Dosen Rizin nicht selten heftige hämorrhagische Magendarmentzündung, die mit der Ausscheidung wohl im genetischen Zusammenhang steht. Herr Reid hat unter meiner Leitung diese noch nie nachgeprüften Versuche bestätigt, so dass also an einer Ausscheidung des Giftes durch die Darmschleimhaut nicht zu zweifeln ist.

Was die Niere anlangt, so zeigt sich schon in vita Eiweissausscheidung im Harn. Bei der Sektion kann der in der Blase noch vorhandene Harn blutig verfärbt sein und reichliche Zylinder hyaliner und epithelialer Natur aufweisen. In der Nierenrinde ist Kernpyknose häufig. Ferner finden sich die Epithelien vieler gewundenen Kanälchen und der Henleschen Schleifen teils heftig degeneriert, teils in vakuolärer Umwandlung (Cruz) begriffen. Auch multiple kleine Blutaustritte ins Gewebe der Niere sind nicht selten. Auch hier ist die Vermutung berechtigt, dass die Niere eins der Ausscheidungsorgane des Giftes ist und dass sich daher hier das Gift vorher in dem Parenchym aufspeichert und dadurch so konzentriert wird, dass Agglutinationen und dadurch multiple kleine Blutaustritte entstehen.

Bei schweren Vergiftungen können auch die Leberzellen und der Herzmuskel Fetteinlagerung, Kernpyknose und sonstige schwere Alterationen zeigen.

Es sei mir verstattet, hier den Bericht über die Lipasevergiftung eines Kaninchens, von dem ich S. 27 gesprochen habe, einzuschalten, weil er für Rizin typisch ist.

Ein Kaninchen von 1300 g starb 10 Stunden nach subkutaner Einspritzung von 10 mg Jalanderscher Lipase. Eiweissharn hatte es schon in der dritten Stunde nach der Einspritzung entleert. Die Sektion ergab an der Einspritzstelle unter der Haut mehrere kleine Blutaustritte und ein hämorrhagisches ausgebreitetes Ödem. Im grossen Netz zahllose punktförmige und einzelne grössere Blutaustritte. Auch das gesamte übrige Bauchfell nicht frei von kleinen Blutaustritten. Unter dem Bauchfell-

[1]) Etude sur la ricine et l'antiricine. Annales de l'Inst. Pasteur 1896, p. 663.

[2]) Arch. f. exp. Path. u. Pharm. Bd. 41, 1898, S. 443.

überzug des Blinddarmes sind ebenfalls zahllose punktförmige Blutaustritte. Die Schleimhaut des Dünndarmes ist vom Pylorus ab gerötet und z. T. stark geschwollen. Der Inhalt des Dünndarms ist durchweg dünnflüssig und an vielen Stellen blutig gerötet. Alle Plaques sind beträchtlich verdickt durch hämorrhagische Infiltration. Die Lymphknoten an der Wurzel des Bauchfelles sind schwarzrot und beträchtlich vergrössert. Angeschnitten entleeren sie reichlich rötliche Flüssigkeit.

Dieser Befund ist durchaus eindeutig; er kann nur auf Rizin oder ein dem Rizin analog wirkendes Gift bezogen werden.

Ehe ich von den tödlichen Dosen des Rizin spreche, muss ich nochmals zu der von mir schon erwähnten, von Cushny[1]), Franz Müller[2]), M. Jacoby[3]) und vielen anderen Autoren vertretenen Ansicht, nach der das Rizin ein Gemisch zweier Substanzen, eines Rizintoxins und eines Rizinagglutinins sein soll, Stellung nehmen. Für die Blutkörperchenwirkung komme nur das Agglutinin, für die übrigen Wirkungen aber das Toxin in Betracht. Ebenso spiele bei der Immunisierung nur letzteres eine Rolle. Ich habe zur Prüfung dieser Ansicht, die ich niemals geteilt habe, folgenden Versuch gemacht.

Ein Gramm entfetteter Samenkerne wurden mit 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung in der Reibschale verrieben und nach 12stündigem Stehen filtriert und mit physiologischer Kochsalzlösung nachgewaschen, bis 10 ccm Filtrat gewonnen waren. Das Filtrat enthielt zwar keineswegs die Gesamtmenge, aber doch den grössten Teil des Rizins, also fast 10 mg. Zur Lösung dieses Rizins wurde jetzt in Abständen von je $^1/_2$ Stunde 10mal je 1 ccm defibriniertes menschliches Plazentarblut gesetzt. Die ersten Portionen wurden rasch in toto agglutiniert, die letzten langsamer. Zwei Stunden nach Zusatz der letzten Portion wurde die gallertige Masse auf ein Filter gebracht und mehrere Stunden lang immer wieder mit je 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung übergossen. Falls das Agglutinat nur das Rizinagglutinin enthält, musste die Gesamtmenge des Rizintoxins ins Filtrat gehen und schon nach 1 Stunde fast quantitativ entfernt sein. Nach dem Abtropfen der letzten 10 ccm Waschwasser wurde die Gesamtmenge des Filtrates auf Rizintoxin mittels Antirizin geprüft. Sie ergab aber nur Spuren davon. Nun wurde der dunkelrote Brei vom Filter geschabt und in der Reibschale mit einigen Tropfen verdünnter Salzsäure gründlich durchgeknetet, wobei er ein schwarzes Aussehen annahm. Nach zweistündigem Stehen und nochmaligem Durchkneten durfte ich hoffen, dass die Verbindung von Stroma und Rizin durch die Salssäure zerlegt sei und versetzte nun unter weiterem Kneten die Masse tropfenweis mit stark verdünnter Natriumkarbonatlösung, bis die Re-

[1]) Arch. f. exp. Path. u. Pharm. Bd. 41, 1898, S. 439.

[2]) Ebenda Bd. 42, 1899, S. 302.

[3]) Handb. d. Technik u. Methodik der Immunitätsforschung Bd. 1, 1907, S. 51.

aktion eben anfing alkalisch zu reagieren. Nun brachte ich den Brei wiederum auf ein Filter und wusch unter Zusatz von je 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung aus. Der letzte abfliessende Tropfen des 5.—9. Auswaschens wurde stets darauf geprüft, ob er, zu einer Spur Menschenblutkörperchen gesetzt, diese noch agglutinierte. Dies war selbst beim neuntenmal noch der Fall. Ich wusch nun noch, bis 100 ccm Gesamtfiltrat vorhanden war. Pro Kubikzentimeter konnte dieses Filtrat höchstens 0.1 mg Rizinagglutinin enthalten. In Wahrheit enthielt es jedoch noch weniger, da erstens der Samenauszug kein erschöpfender gewesen war, da zweitens mehrfach Tropfen des noch konzentrierten Filtrates von mir zur Prüfung abgenommen waren, und da drittens nachheriges Auswaschen (d. h. nach dem Gewinnen von 100 ccm Filtrat) noch immer Agglutinin auszulaugen imstande war.

Von den 100 ccm versetzte ich je 5 mit je drei Tropfen Meerschweinchenblut, Menschenblut, Kaninchenblut, Katzenkörperchen, Hundekörperchen und Ziegenkörperchen. In allen Proben erfolgte Agglutination.

Da die Blutkörperchen in allen Proben nach wenigen Stunden total und fest agglutiniert waren, so hatte ich erstens damit bewiesen, dass in der Tat Agglutinin in Lösung gegangen war. Ich hatte aber zweitens, was übrigens längst bekannt ist, von neuem bewiesen, dass dieses Agglutinin, welches ja aus Menschenblutagglutinat stammte, ganz sicher nicht artspezifisch war, denn sonst hätte es ja nur auf Menschenblut reagieren dürfen. Es reagierte aber auf alle drei Blutarten und auf die drei Blutkörperchenarten ziemlich gleich rasch und gleich stark.

Ich hatte nun noch drittens nachzuweisen, dass mein wiedergewonnenes Rizin auch als Toxin zu wirken imstande sei. Natürlich haben vor mir schon verschiedene Autoren denselben Versuch gemacht und gefunden, dass das aus Blutkörperchen isolierte Rizin toxisch wirkte. Meist aber wird dabei die Ausrede benutzt, die Blutkörperchen verankerten nur nebenbei etwas Toxin mit; dies sei aber eben eine Nebenreaktion. Ich habe aus allen meinen Versuchen immer wieder nur den einen Schluss ziehen können, dass die Blutkörperchen genau ebensogut und ebensostark das Toxin als das Agglutinin binden. Auch der in Rede stehende Versuch zeigte dies. Von den 100 ccm wiedergewonnenen Rizins spritzte ich einem Kaninchen von 1250 g nur den 20. Teil, also nur 0.05 g Presskuchen entsprechend, unter die Haut. Nach 70 Stunden starb es unter Lähmungserscheinungen. Die Sektion ergab Rötung der Schleimhaut einzelner Dünndarmschlingen und Schwellung und Rötung der Peyerschen Plaques, d. h. die für

Rizintoxin charakteristischen Erscheinungen. Mit dem wiedergewonnenen Toxin der 100 ccm hätte ich also mindestens 20 Kaninchen in charakteristischer Weise vergiften können, während ich mit Antirizin im Filtrate der Blutkörperchen nur Spuren von fällbarer Substanz nachweisen konnte. Somit hat mein Versuch von neuem bewiesen, dass die roten Blutkörperchen das Rizintoxin reichlich mit verankern oder, anders ausgedrückt, der Versuch hat gezeigt, dass das Rizin zwar zwei verschiedene Eigenschaften besitzt, nämlich eine agglutinierende und eine toxische, dass aber eine Trennung des Rizins in ein Agglutinin und in ein Toxin auch auf biologischem Wege unmöglich ist, dass vielmehr beide höchstwahrscheinlich identisch sind.

Für meine Untersuchungen landwirtschaftlicher Futtermittel auf Rizin gab mir vorstehender Versuch eine sehr willkommene Handhabe, in schwierigen Fällen das Rizin von den Eiweissstoffen der Kraftfutterkuchen abzuscheiden. Wir werden daher auf diese Form der Rizinisolierung wiederholt zurückkommen. Hier sei zur Frage der Einheitlichkeit des Rizins nur noch bemerkt, dass, wie P. Ehrlich[1]) schon vor 15 Jahren durch minutiös sorgfältige Versuche festgestellt hat, das Rizinimmunserum nicht nur das Rizintoxin, sondern in genau derselben Dose auch das Rizinagglutinin neutralisiert. Falls beide Gifte nebeneinander vorhanden wären, wäre es doch sehr unwahrscheinlich, dass die antidotarische Dose des Immunserums für beide Gifte genau gleich gross ist. — Die wiederholt gegen mich ausgespielte Tatsache, dass die Blutkörperchen mit Rizin aktiv immunisierter Tiere, von ihrem Serum getrennt, auf Rizin reagieren, beweist gegen meine Annahme der Identität des Toxins und Agglutinins gar nichts. Er zeigt nur, was ich niemals bestritten habe, dass die Immunisierung im Plasma des Blutes und nicht in der Substanz der roten Blutkörperchen sich abspielt.

Nun erst komme ich zur Besprechung der tödlichen Dose des Rizins. Hier müssen wir gesondert die bei Einführung unter die Haut und die nach innerlicher Verabfolgung betrachten. Erstere interessiert mehr den Experimentator, der das Rizin auf diese Weise nachweisen will; letztere interessiert

[1]) Fortschritte der Medizin 1897, No. 2.

in hohem Grade den Landwirt, falls er mit Rizinus spurweise verunreinigte Futterkuchen geliefert bekommen hat.

Ich habe seinerzeit mit Stillmark nach Einspritzung unter die Haut alle Kaninchen sterben sehen, die pro Kilogramm Tier auch nur 0.03 mg des von uns selbst nach der Aussalzungsmethode dargestellten, auf aschefreie Substanz berechneten Rizins erhalten hatten. Mehrere Nachuntersucher haben bestätigt, dass diese Angabe nicht übertrieben war. Im Gegenteil stellte sich heraus, dass bei weiterer Reinigung des Rizins die Todesdose noch kleiner ist. So haben M. Jacoby[1]) in Deutschland und Osborne, Mendel und Harris[2]) in Amerika unabhängig voneinander ein so reines Rizin dargestellt, dass bei Kaninchen schon **0.0000005 g** (d. h. 0.0005 mg) pro Kilogramm bei subkutaner Einspritzung den Tod herbeiführte. Mit einem Gramm dieser Substanz würde man also zwei Millionen Kaninchen von je 1 kg Gewicht umbringen können. Diese Angaben genügen, um klar zu machen, dass die subkutane Einspritzung des Auszuges aus einem einzigen Gramm Futterkuchen, der mit 0.1 % Rizinuspresskuchen verunreinigt ist, auf ein erwachsenes Kaninchen noch tödlich wirken kann, denn er enthält 1 mg entölten Rizinussamen, d. h. 0.01 mg Rizin.

Bei Einführung des Rizinusmehles mit der gewöhnlichen Kost in den Magen unserer Kühe und anderer pflanzenfressenden Haustiere ist, wie ich schon oben sagte, die Giftigkeit viel (etwa hundertmal) geringer. Bei Kaninchen lässt sich der Versuch der Bestimmung der kleinsten, innerlich tödlichen Dose nicht gut quantitativ genau anstellen, wohl aber beim Saugkalb.

Zu diesem Behufe gab ich einem 24.5 kg schweren Kalbe, das noch reine Milchkost genoss, unter 2 l Milch 1.5 g schalenfreien Rizinuspresskuchen. Darin waren noch 0.2 g Fett und Wasser enthalten, so dass die Menge der verfütterten wasser- und fettfreien Kernsubstanz 1300 mg und die Menge des verfütterten Rizins höchstens 13 mg betrug. Die Menge der Rizinussubstanz betrug also nur 0.065 % des Futters und die des Rizins nur 0.00065 % des Futters. Trotzdem ferner dieses Giftfutter nicht mit einem Male sondern in 3 Portionen verteilt im Laufe von 10 Stunden verabfolgt wurde, erkrankte das Tier nach 24 Stunden unter Durchfall und Appetitlosigkeit. Nach 36 Stunden war der Stuhl bereits ganz wässrig und das Tier sehr matt. In der 44. Stunde nach dem Beginn der Verabfolgung des Giftes starb das Tier unter hochgradiger Schwäche und Aussetzen des Pulses.

[1]) Hofmeisters Beiträge Bd. I u. f.
[2]) Americ. Journ. of Physiol. 1905.

Die Sektion ergab eine über viele Meter des Darmes sich erstreckende starke Entzündung der Schleimhaut, infolge deren der Darminhalt blutig war.

Das Tier erhielt pro Kilogramm 0.053 g ölfreie Kernsubstanz der Rizinussamen und darin **0.53 mg Rizin** verfüttert.

Ein anderes Kalb von 32.5 kg Gewicht erhielt von mir in 3 l Milch verrührt 1 g Rizinuspresskuchen, also nur 0.03 % des Futters. Nach Abzug der letzten Reste Fett und des Wassers enthielt das Gramm Presskuchen 866 mg reine Kernsubstanz und darin 8.66 mg Rizin, d. h. 0.000289 % des Futters. Gemäss der geringeren Giftmenge lebte dieses Tier etwas länger als das vorige. Es starb in der 55. Stunde nach der Vergiftung. Der Tod erfolgte unter analogen Erscheinungen wie das erste Mal.

Die Sektion ergab auch diesmal in ausgedehnten Strecken des Dünndarms entzündliche Hyperämie, Schwellung der Plaques und der mesentrialen Lymphdrüsen sowie Blutaustritte unter dem Endokard des Herzens und unter der Pleura.

Das Tier erhielt pro Kilogramm Körpergewicht **0.27 mg Rizin** verfüttert.

Dieser zweite Versuch lehrt also, dass wenig über ein Viertel Milligramm Rizin pro Kilogramm Körpergewicht, per os in enormer Verdünnung verfüttert, Kälber noch mit Sicherheit tötet.

Nun ist nach den S. 28 mitgeteilten Versuchen von Cornevin das Rind aber keineswegs eins der empfindlichsten, sondern bei Einführung per os eins der unempfindlichsten Versuchstiere. Und trotzdem beträgt die letale Dose nur wenig über ein Viertel Milligramm pro Kilo Tier. Wenn Soxhlet die Angabe gemacht, dass 1.5 g Rizinuspresskuchen ein Rind töten, so stimmt dies, falls das Tier 60 kg Gewicht hat, zu meiner Angabe. Falls er ein schwereres Tier meint, so ist nach ihm die Empfindlichkeit der Rinder noch grösser als nach mir.

Nun sind von seiten der Futterhändler wiederholt Versuche gemacht worden, bei denen Rinder anfangs ganz kleine, später etwas grössere Dosen von Rizinus erhielten und dann wochenlang grössere Dosen, als ich sie gab, gut ertrugen. Diese sind keine Gegenbeweise gegen mich, sondern zeigen nur, dass eine gewisse Unempfindlichkeit gegen Rizin relativ leicht zu erzielen ist.

So gab ich einem Kalbe von demselben Gewichte wie das vorige war, erst 0.5 g Rizinuspresskuchen, und als der danach eintretende Durchfall vorüber war und das Tier wieder ordentlich soff, 1 g Rizinuspresskuchen unter

2 l Milch. Während das vorige Tier an dieser Dose gestorben war, bekam dieses nicht einmal erheblichen Durchfall und stellte die Nahrungsaufnahme nicht ein.

Solches Unempfindlichwerden geht bei mehrwöchentlicher Fortsetzung der Darreichung in völlige Immunität der Haustiere über. Man darf daher bei Versuchen, die kleinste letale Dose für eine Tierart zu bestimmen, dasselbe Versuchstier, falls es beim ersten Versuch am Leben bleibt, nicht etwa nach einigen Tagen nochmals benutzen. Dies ist der Einwand, den ich gegen einige sonst sehr verdienstlichen Versuche von Kurt Birbaum,[1]) die kleinste bei innerlicher Verabfolgung tödliche Dose zu bestimmen, erheben muss. Birbaum fand als kleinste letale Dose bei innerlicher Darreichung pro Kilogramm Kaninchen 0.7 bis 1.0 g Rizinussamen; Ziegen vertragen nach vorheriger Fütterung kleiner Dosen 10—50 g Samen pro Kilogramm, Hammel unter gleichen Umständen 10 g. Für Schweine fand er 1.5—3.1 g, für das Pferd 0.4 g, für den Hund 0.84 g, für Hühner 13.3 g pro Kilogramm Tier. Für Tauben waren 15 g Rizinussamen pro Kilogramm Tier noch ungiftig. Alle diese Angaben beziehen sich auf die öl- und schalenhaltigen Samen. Zieht man beides ab, so werden die Dosen schon viel kleiner. Die von Cornevin gefundene relative Unempfindlichkeit der Vögel wird auch durch die Birbaumschen Versuche dargetan. Sie ist um so auffallender, als Taubenblut gegen Rizin ausserordentlich empfindlich ist. Birbaum schliesst aus seinen Versuchen, dass die Giftigkeit des Rizinus für Tiere bisher überschätzt worden sei. Ich schliesse aus meinen am Kalbe, dass sie umgekehrt von der Mehrzahl der Autoren bisher unterschätzt worden ist. Wer meine Versuche nachprüfen will, muss natürlich das Rizinuspulver ebenfalls so fein emulgieren, wie ich es getan habe; in Stücken verschluckter Rizinussame wirkt unter Umständen 100 mal schwächer als gepulverter. Was die vorhin schon gestreifte erworbene Immunität gegen Rizinus anlangt, so begnüge ich mich zu erwähnen, dass für weisse Mäuse P. Ehrlich[2]) die Immunisierbarkeit durch Verfütterung steigender Dosen von Rizin entdeckt hat, und dass Cornevin[3]) sie zuerst praktisch in der Landwirtschaft verwertet

[1]) Beitrag z. Giftigkeit des Samens Ricini communis. Diss. Giessen 1906.
[2]) Deutsche med. Wochenschr. 1891.
[3]) Journal de Lyon 1897, p. 25.

hat. Ich zitiere, da mir seine Publikation im Original leider selbst mit Hilfe des Berliner Auskunftsbureaus nicht zugängig zu machen war, seine wichtigen Schlusssätze nach Eug. Fröhner.[1]) Sie lauten:

1. Zwei Stunden lang auf 100° erhitztes Rizin verwandelt sich in einen Impfstoff, der, Haustieren unter die Haut injiziert, gegen Rizinusvergiftung immun macht.
2. Die Wiederkäuer sind für die Rizinuswirkung empfindlicher als Schweine und Hühnerarten. Beim Schwein genügen zwei durch achttägige Intervalle getrennte Impfungen zur Erzielung einer Immunität, während bei anderen Tiergattungen deren drei nötig sind.
3. Die durch die Vaccination erreichte Immunität ist von Dauer; das Fleisch der mit Rizinusölkuchen gefütterten Tiere hat keinerlei schädliche Eigenschaften.
4. Man kann unbeschadet den Haustieren eine gewisse Quantität Rizinuskörner oder Rizinuskuchen unter die Futterration mischen, wenn man sie vorher gegen das heftige darin enthaltene Gift immunisiert hat.

Es wird in einer späteren Arbeit meine Aufgabe sein, darüber zu berichten, was die experimentelle Prüfung dieser Angaben ergeben hat.

Selbst bei Menschen scheint sich bei arzneilichem Gebrauche von Rizinussamenemulsionen, wie sie früher in Asien und Persien üblich waren, eine Immunität herauszubilden. Jedenfalls liegen Angaben vor, wonach mit dieser lebensgefährlichen Arznei Kuren (z. B. bei chronischer Obstipation) gemacht wurden, die ohne Schaden für die Patienten bis zu Dosen stiegen, denen jeder von uns nicht Immunisierten sofort erliegen würde. So sagt z. B. der im 10. Jahrhundert lebende persische Pharmakolog Abu Mansur Muwaffak bin Ali Harawi,[2]) der Rizinusöl und Rizinussamen wohl unterscheidet: „Die Dosis der Samen ist 11—20 Stück; wir aber geben nicht über 11 Stück.“ Die Vergiftungskasuistik zeigt, dass bei nicht immunisierten Menschen schon 2—3 Stück, unter Umständen sogar schon ein einziger Same schwerste Vergiftung hervorrufen.

[1]) Lehrb. der Toxikologie für Tierärzte, II. Aufl. (Stuttgart 1901), S. 271.

[2]) Die pharmakologischen Grundsätze des Muwaffak, zum ersten Male aus dem Urtext übersetzt und erläutert von Abdul-Chalig Achundow. Historische Studien des pharmak. Inst. zu Dorpat, herausgegeben von R. Kobert, Bd. 3 (Halle a. Saale 1893), S. 195.

V. Über den Nachweis des Rizins in Futtermitteln, welche keine anderen Agglutinine enthalten.

Ich rede im nachstehenden fast nur von solchen Futtermitteln, in welchen ich selbst auf Wunsch von Landwirten oder von Versuchsstationen Rizinus nachzuweisen gehabt habe.

1. **Weizenausreuter,** in der Schweiz Weizenausmahleten genannt, hatten in einem Falle, wo man mich von Bern aus zu Rate zog, den Tod von zwei Pferden und schwere Erkrankung eines dritten zur Folge gehabt. Das Resultat der in Bern vorgenommenen toxikologisch-chemischen und der mikroskopisch-botanischen Untersuchung war ein negatives gewesen. Wohl aber liess sich das Gift auf folgende Weise nachweisen.

40 g der übersandten Ausreuterprobe wurden in der Reibschale mit etwas Toluol zerrieben und mit der fünffachen Gewichtsmenge physiol. Kochsalzlösung 12 Stunden lang bei 38° nach Zusatz von noch 1 ccm Toluol digeriert, dann der Brei mittels Natriumkarbonat neutralisiert, abgepresst, filtriert und das Filtrat sofort mit dem gleichen Volumen Alkohol gefällt und der entstehende Niederschlag sofort auf einem Saugfilter gesammelt. Das Filtrat wird — für den Fall, dass der erste Niederschlag nichts ergeben sollte — sofort nochmals mit Alkohol und zwar mit dem doppelten Volumen des Filtrates gefällt und der Niederschlag II wie No. I behandelt. Die abgesaugten Niederschläge wurden mit Äther nachgewaschen und sodann in je 40 ccm physiol. Kochsalzlösung gelöst. Da mit der Lösung von Niederschlag I alle Reaktionen gelangen, wurde die Lösung von Niederschlag II nicht verwendet. Je 5 ccm der Lösung von I wurden mit je 5 Tropfen Meerschweinchen-, Kaninchen- und Menschenblut versetzt.

Es erfolgte überall — und damit war der Beweis der Rizinanwesenheit erbracht — totale Agglutination binnen weniger Stunden. In Bern wurden analoge Versuche mit Kaninchen- und Schweineblut mit positivem Erfolg gemacht. 5 ccm, die von mir einem Kaninchen (1600 g) subkutan eingespritzt wurden, töteten es binnen 40 Stunden. Die Sektion zeigte sulziges Ödem der Injektionsstelle und Schwellung der Plaques. Dieser Versuch wurde mit gleichem Erfolg auch in Bern angestellt. Damit ist erwiesen, dass das in den Ausreutern anwesende Rizin nicht nur seine agglutinierenden, sondern auch seine toxischen Eigenschaften bewahrt hatte. In Bern wurde ferner ein nach meinen Angaben hergestellter Auszug mit Alkohol gefällt, wieder gelöst und mit Antirizinserum versetzt. Er gab Trübung, während die Auszüge aus anderen Futtermitteln keine Trübung ergaben. Damit ist er-

wiesen, dass das Rizin der Ausreuter auch die wasserunlösliche Rizin-Antirizinverbindung liefert. Somit war auf dreierlei Weise das Rizin einwandfrei biologisch nachgewiesen.

Endlich wurde im Tierspital zu Bern noch folgender vierter Versuch gemacht. Es war erwiesen, dass 1 kg der Ausreuter ein Pferd binnen 7 Stunden schwer krank gemacht und binnen 56 Stunden getötet hatte. Nun wurde dieselbe Menge Ausreuter einem anderen Pferde nach vorherigem Aufkochen verfüttert. Es blieb ganz gesund.

Durch diese verschiedenen Versuche war erwiesen, dass ein durch Kochen unschädlich zu machendes Gift vorlag, das mit physiol. Kochsalzlösung ausgezogen und mit Alkohol aus der Lösung niedergeschlagen werden konnte. Wieder gelöst wirkte es auf verschiedene der Rizinwirkung unterliegende Blutarten agglutinierend und tötete Kaninchen nach subkutaner Einspritzung nach längerer Inkubation unter den für Rizin charakteristischen Veränderungen. Es gab ferner mit Antirizin einen Niederschlag. Es konnte also eine Verunreinigung der Ausreuter durch Rizinussamenbestandteile stattgefunden haben. Wie diese unter die Ausreuter gekommen sind, ist mir allerdings nicht bekannt geworden. Ich weiss aber, dass die grossen Rizinuspressereien des Auslandes die Samen durch Quetschen enthülsen und die wertlosen und an sich ungiftigen Schalen zu sehr billigen Preisen abgeben. Da stets an einzelnen Schalen Bruchteile von zertrümmerten Samenkernen haften bleiben, werden diese Schalen dadurch giftig und dürfen daher ebenfalls in Futtermitteln grundsätzlich nicht geduldet werden.

2. **Weizenkleie** hatte in einem Falle, den der verstorbene Geh. Rat Kellner zu begutachten hatte, auf eine Reihe von Haustieren giftig gewirkt. Ich wurde 1910 gebeten, eine Untersuchung auf Rizinus vorzunehmen.

100 g der fraglichen Kleie wurden mit 500 ccm physiologischer Kochsalzlösung und 2 ccm Tolnol 16 Stunden lang bei 38° digeriert, dann abgepresst, die Flüssigkeit mit Natriumkarbonat neutralisiert und vom entstehenden Niederschlage nach energischem Schütteln abfiltriert. Vom Filtrat wurden 20 ccm mit 40 ccm Alkohol gefällt und sofort auf dem Saugfilter der Niederschlag abgesaugt, wieder in physiologischer Kochsalzlösung gelöst und filtriert. Von dieser ganz klaren Lösung erhielt ein Kaninchen von 1700 g 2 ccm, entsprechend 0.4 g Kleie in die Ohrvene. Es blieb zunächst ganz normal, liess aber dann eiweisshaltigen Harn und starb in der 30. Stunde nach der Einspritzung unter Schwächeerscheinungen.

Sektion. Nach Eröffnung der Bauchhöhle zeigt sich der Dickdarm, und zwar der Mastdarmabschnitt, von zahllosen Blutpunkten durchsetzt. Diese Punkte erweisen sich als Blutaustritte unter die Dickdarmschleimhaut. 15 cm über dem Anus sind sie besonders zahlreich. Ebensolche finden sich im Processus vermiformis bis zum Ende hin und vereinzelt im oberen Dickdarm, unter dem Überzug der Niere, im Gewebe der Niere und in den Lymphknoten der Bauchhöhle.

Ein zweites Kaninchen von 2200 g erhält gleichzeitig 4 ccm, entsprechend 0.8 g der fraglichen Kleie in die Ohrvene. Dass Auszug aus ganz normaler Kleie ebenso behandelt und eingespritzt ertragen wird, war vorher festgestellt worden. Dieses Tier starb in der 25. Stunde nach der Einspritzung. Die zwei letzten Harnportionen waren eiweisshaltig. Die Erscheinungen vor dem Tode bestanden in Durchfall, Atemnot und heftigen, erst klonischen, dann tonischen Krampfanfällen.

Bei der Sektion erwies sich die zur Einspritzung benutzte Ohrvene als normal. Nach der Eröffnung der Bauchhöhle zeigen sich alle Dünndarmschlingen mehr oder weniger gerötet. Unter dem serösen Überzug der ersten Hälfte des Blinddarms finden sich punktförmige Blutaustritte. Nach Eröffnung des Magens zeigen sich in der Magenschleimhaut mehrere Zehnpfennigstück-grosse Blutaustritte an der grossen Kurvatur und zwar sowohl am Mageneingang als auch am Ausgang. Das Mesenterium in der Nähe der Milz enthält zahlreiche kleine Blutaustritte. Nirgends im Dickdarm feste Kotballen, sondern im gesamten Dünndarm, Blinddarm und Dickdarm ein dünnflüssiger Inhalt. Das Lymphknotenpaket an der Wurzel des Mesenteriums beträchtlich vergrössert und blutig infiltriert. Die Dünndarmschleimhaut zeigt starke Infiltration der Zotten. Einzelne Peyersche Plaques geschwollen und mit Blutpunkten durchsetzt. Niere, Leber und Lunge ohne makroskopische Veränderungen. Rechtes Herz mit fest geronnenem Blute prall gefüllt, linkes ebenso.

Ein drittes Kaninchen von 1900 g Gewicht erhält dieselbe Dose ebenfalls in die Ohrvene. In der 19. Stunde nach der Einspritzung brachen plötzlich heftige Streckkrämpfe aus, denen das Tier nach 9 Minuten erliegt. Der vor Ausbruch der Krämpfe entleerte letzte Harn enthält sehr zahlreiche, in verdünnter Essigsäure unlösliche granulierte Zylinder sowie etwas Blut.

Sektion. Bei Eröffnung der Bauchhöhle zeigt das grosse Netz zahllose, teils linsengrosse, teils grössere Blutaustritte. Die Schleimhaut des ganzen Magendarmkanales mit Ausnahme des Magens und des Blinddarmes zeigt das Bild der hämorrhagischen Entzündung. Die Peyerschen Plaques sind nekrotisch. Die Magenschleimhaut und die Magensubmukosa sind blutreich. Die an der Wurzel des Mesenteriums befindlichen Lymphknoten sind hämorrhagisch infiltriert. Der Inhalt des Blinddarmes ist halbflüssig. In der Leber finden sich mehrere Blutaustritte auf jedem Schnitte. Die Nieren sind mit Blut überfüllt, namentlich im Rindenteil. Mikroskopisch zeigen sie das Bild einer akuten parenchymatösen Nephritis. Der in der Blase vorgefundene Harn enthält reichlich epitheliale und andere Zylinder sowie ergossenes Blut. Einzelne Blutaustritte auch in der Blasenschleimhaut. Einzelne Blutaustritte auch unter der Pleura der rechten Lunge. Ebensolche auch unter dem Epikard und Endokard beider Herzhälften.

Diese drei absichtlich in extenso wiedergegebenen Sektionsprotokolle zeigen, dass schon aus 0.4—0.8 g der fraglichen Kleie sich ein Gift ausziehen liess, welches bei intravenöser Einspritzung typische Veränderungen, wie sie dem Rizin zukommen, hervorrief.

Ein viertes Kaninchen von 1540 g erhielt 5 ccm, entsprechend 1 g Kleie unter die Haut und starb am vierten Tage. Hier waren die anatomischen Erscheinungen geringer, aber doch auch für Rizinus sprechend. Der letzte Harn enthielt Eiweiss, weisse Blutkörperchen und vereinzelte Zylinder.

Natürlich mussten auch Versuche an Blut extra corpus angestellt werden, um die Diagnose zu sichern.

Da gerade frisches Kaninchenblut zur Verfügung stand, wurden sie damit angestellt und zwar sowohl mit dem Originalauszug als mit der Auflösung der Alkoholfällung. Von beiden Flüssigkeiten genügte 1 ccm, um in 10 ccm 1 %iger Blutkochsalzmischung binnen 1 Stunde und 40 Minuten totale Agglutination herbeizuführen.

Um den Einwand, dass gewisse Eiweissstoffe der Kleie die Agglutination etwa besonders begünstigt hätten, auszuschalten, wurde noch folgender Versuch gemacht.

10 ccm der wieder aufgelösten Alkoholfällung des ursprünglichen Kleienauszugs werden mit gewaschenen Kaninchenkörperchen so lange versetzt, als sie noch deutlich agglutiniert wurden. Dann wurde das voluminöse Agglutinat auf einem Filter mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen, mit einigen Tropfen Salzsäure in der Reibschale zersetzt und der Brei mit kohlensaurem Natrium neutralisiert, aufs Filter gebracht und 10mal je 1 ccm physiologischer Kochsalzlösung zugesetzt, um alles Rizin auszuwaschen. Das klare helle Filtrat, von neuem mit Kaninchenkörpercheu versetzt, agglutinierte diese sofort.

Diese Agglutination konnte nur auf Rizin beruhen.

Da die Klebereiweisse biologisch sich nach vielen Richtungen hin anders verhalten als andere pflanzliche und tierische Eiweisse, habe ich es für nötig gehalten, eine ganze Versuchsreihe an Blut mit Auszügen aus reiner Weizenkleie anzustellen. Ich fasse deren Ergebnis in den Satz zusammen, dass Mengen eines solchen neutralisierten Auszuges, die 50—1000 mg Kleie entsprechen, nach Fällung mit Alkohol und neuer Auflösung an sich mit vier beliebig herausgegriffenen Blutarten, nämlich mit Menschenblut, Kaninchenblut, Meerschweinchenblut nnd Kalbsblut keine Agglutination geben. Auch bei Einspritzung werden sie von Kaninchen in den hier in Betracht kommenden Dosen vertragen.

Weiterhin habe ich mir dann Gemische von Weizenkleie mit genau gewogenen Mengen von Rizinussamen hergestellt und zwar sowohl solche, wo beide Substanzen trocken gemischt wurden, als solche, wo Kleienauszug und Rizinusauszug gesondert hergestellt und dann gemischt wurden. Die Menge des Rizinussamens wurde anfangs 100mal kleiner als die der Kleie genommen, später sogar 500mal kleiner. Die Auszüge wurden bei 38° C. hergestellt, z. T. aber dann eine Stunde lang auf 70° erhitzt. Das Ergebnis der sehr zahlreichen und nicht mühelosen Versuche ist folgendes:

Selbst bei Anwesenheit von nur 0.2 % Rizinusmehl in Weizenkleie lässt sich der Nachweis des Giftes unter Anwendung von Menschenblut, Taubenblut, Kaninchenblut und Rattenblut mit Sicherheit führen, wofern man das fragliche Gemisch erst 24 Stunden mit der fünffachen Menge physiologischer Kochsalzlösung bei Anwesenheit von Toluol im Wärmeschrank extrahiert, den abgepressten Auszug neutralisiert, filtriert, mit dem gleichen bis doppelten Volumen Alkohol fällt, sofort den Niederschlag filtriert, absaugt und relativ konzentriert wieder löst. Es gelingt ohne Mühe, diese Lösung mindestens doppelt so stark zu machen als der ursprüngliche Auszug war. Sie wirkt bei intravenöser und bei subkutaner Einspritzung auf Kaninchen giftig und tötet sie unter Hinterlassung für Rizin charakteristischer Befunde. Die Blutwirkung des Rizins bei den genannten Blutarten wurde durch den 500fachen Überschuss von Kleie nicht aufgehoben, sondern ging fast in derselben Verdünnung wie ohne Kleie, d. h. bei 1—2 mg ölhaltigem Rizinussamen in 10 ccm 1 %igem Blut vor sich. Das vorherige Erhitzen auf 70° störte die Reaktion nicht. Wir sind also mit Hilfe dieses Verfahrens imstande, Rizinus in Kleie auf doppelte Weise nachzuweisen, auch wenn die Rizinusmenge nur 0.2 % ausmacht.

Zum Schluss möchte ich noch einige Angaben über die Fällung des Rizins bei 500fachem Kleieüberschuss durch chemische Fällungsmittel machen. Wie alle Kolloide, so wird auch das Rizin von voluminösen, nicht deutlich kristallinischen Niederschlägen analog den Enzymen der Adsorption mit niedergerissen. Dies hat die unangenehme Folge, dass beim Neutralisieren der an sich stets sauren Kleienauszüge der entstehende Calciumphosphatniederschlag stets Rizin mit

niederreisst. Diesem Niederschlag kann man es zwar durch energisches Schütteln mit 0.9 %iger Kochsalzlösung wieder entziehen, aber man erhält es dann doch nur in grosser Verdünnung. Ich habe versucht, aus dem Filtrat des Neutralisierungsniederschlages durch Zusatz von Alaun und Natriumphosphat es in grossen Mengen mit niederzureissen. Dies gelang zwar, aber dem Niederschlag konnte ich es wie dem Neutralisierungsniederschlag nur durch energisches Schütteln mit 0.9 %iger Kochsalzlösung wieder entziehen. Immerhin will ich diese Methode doch nicht unerwähnt lassen, da sie das Gift in sehr reiner Form liefert. Hat man mit 0.1 %iger Kochsalzlösung ausgeschüttelt, so kann man bei 50° C. die Lösung bis auf den neunten Teil ihres Volumens einengen und hat dann eine sehr kräftig wirkende, zu Blutversuchen vortrefflich geeignete Giftlösung.

3. **Roggenkleie,** welche neben Weizenbestandteilen auch Rizinus enthielt, erhielt ich 1910 ebenfalls von Geheimrat Kellner zur Prüfung. Der Gang der Untersuchung war genau wie bei der Weizenkleie. Das Ergebnis war ebenfalls positiv, d. h. ich konnte durch den Agglutinationsversuch und durch den Tierversuch das Rizin darin nachweisen. Ich glaube die Einzelheiten übergehen zu können.

4. **Gersten-** und **Hafermehl** lassen zugesetztes Rizin ebenfalls erkennen und zwar ungefähr ebenso gut wie Weizenmehl. Fälle von Verunreinigung von Gerste durch Rizin sind mir nicht zu Ohren gekommen und deshalb gehe ich kurz darüber hinweg. Nicht unerwähnt darf jedoch bleiben, dass sehr konzentrierte neutralisierte Auszüge von Gerstenmehl, d. h. solche, die in 5 ccm den Auszug aus einem ganzen Gramm Gerstenmehl enthalten, bei Zusatz von 5 ccm 2 %igen Kaninchenblutes zu 5 ccm Auszug die Blutkörperchen völlig agglutinieren, wodurch der Verdacht, dass hier Rizinusbeimischung vorliegt, erweckt werden könnte. Kleinere Dosen als 600 mg Mehl lieferten keinen agglutinierenden Auszug und auch Auszüge aus 600 bis 1000 mg sind für die meisten anderen Blutarten (z. B. Hühner-, Meerschweinchen-, Kalbs- und Katzenblut) ohne Einwirkung. Ferner hebt Erhitzen auf 70° die agglutinierende Wirkung auf.

Hafermehl gibt an sich unter keinen Umständen Agglutination. Dies ist wichtig zu wissen, da nach Angaben von

Nikolsky[1]) ein Fall beschrieben ist, wo im Hafer 3.3 % Rizinus enthalten war und dadurch mehrere Pferde tötete. Allerdings war die Verunreinigung nur beim Ausladen geschehen, weil gleichzeitig Rizinus ausgeladen wurde.

5. **Palmkernmehl** wurde mir von der Versuchsstation in Pommritz im August 1911 zur Prüfung auf Rizin zugesandt. Es hatte keine tödlichen Vergiftungen veranlasst, aber die Kühe hatten danach stark laxiert und wenig Milch gegeben. Auf pharmakognostischem Wege waren bereits in Pommritz Rizinusbestandteile darin nachgewiesen worden.

Obwohl ich ganz sorgfältig in der oben beschriebenen Weise vorging, vermochten meine Auszüge nur empfindliche Blutarten und auch diese nur schwach zu agglutinieren. Die Einspritzung unter die Haut von Meerschweinchen und Kaninchen führte nicht den Tod der Tiere herbei. Ich konnte also in diesem Falle nur aussagen, dass höchstens Spuren von Rizinusgift nachweisbar seien. Mittlerweile traf auch die Nachricht ein, dass alle Kühe sich völlig wieder erholt hatten. Gerade deswegen, weil ich biologisch so geringe Ausschläge erhalten hatte, habe ich an künstlichen Gemischen von Rizinus und Palmkernmehl die Versuche der Isolierung fortgesetzt. Palmkernauszüge an sich ohne Rizinus hatten auf Blut keinerlei Wirkung. Aber es ergab sich, dass in Palmkern-Rizinus-Gemischen die Schärfe der Nachweisbarkeit fünfmal kleiner ist als bei den Kleie-Rizinus-Gemischen. Während 1 mg Rizinussame neben 500 mg Kleie noch sicher nachweisbar war, hörte hier die Nachweisbarkeit schon auf, wenn 5 mg Rizinussamen neben 500 mg Palmkernmehl vorhanden waren. In vielen Versuchen trat statt der erwarteten Agglutination Hämolyse ein. Ich bitte dringend, gerade dieser Schwierigkeit wegen giftige Palmkernkuchen mir ja zuzusenden. Es wird meine Aufgabe sein, die offenbar hier vorhandene störende Substanz vor der Extraktion des Gemisches mit physiol. Kochsalzlösung zu entfernen oder auf indirektem Wege zum Ziele zu gelangen.

Aus der Literatur möchte ich wenigstens den Bericht von Emmerling[2]) zum Schluss noch kurz streifen. Als 120 Kühe

[1]) Petersburger Archiv für Veterinärwissenschaften Jahrg. 2, 1897, S. 487. Russisch.

[2]) Jahresbericht der Landwirtschaftskammer für die Provinz Schleswig-Holstein Jahrg. 1898, S. 68.

statt Reis Palmkernmehl erhielten, bekamen alle 120 Tiere Durchfall und wollten nicht fressen. Der Milchertrag ging von 1300 l auf 65 l herab. Beim Weglassen des neuen Futtermittels trat Erholung und Wiederanstieg der Milchproduktion ein. Emmerling vermochte zwar 0.08 % Rizinusschalen in dem Palmkernmehl nachzuweisen, aber keine Samenbestandteile von Rizinus. Also auch hier blieb der Fall unentschieden wie bei uns.

6. **Kokoskuchen** ist mir mehreremale zur Prüfung auf Rizinus zugesandt worden, weil damit gefütterte Tiere danach erkrankt waren.

So sandte die Versuchsstation in Pommritz ein Muster eines solchen, in dem dort bei pharmakognostischer Untersuchung Rizinusbestandteile gefunden worden waren. Einem Landwirt, der aus diesem Kuchen eine Tränke gemacht hatte, waren zwei 8 Monat alte Kälber danach unter Durchfall erkrankt und eins der Tiere war am folgenden Tage gestorben.

Das fragliche Mehl wurde mit der 20fachen Menge physiol. Kochsalzlösung und 1 ccm Toluol 24 Stunden lang bei 38° C. ausgezogen, abgepresst, neutralisiert und filtriert. Davon wurden einem Kaninchen von 2020 g 2 ccm, entsprechend 0.1 g des fraglichen Kuchens, unter die Haut gespritzt. Am anderen Morgen war das Tier appetitlos, liess bald darauf eiweisshaltigen Harn und starb nach 36 Stunden unter leichten Zuckungen, nachdem es kurz vorher noch stark eiweisshaltigen Harn entleert hatte.

Die Sektion ergab im grossen Netz reichliche Blutaustritte neben den Gefässen, meist nur stecknadelkopfgross. Die mesenterialen Lymphknoten zeigten reichlichen Blutgehalt; der grosse Plaque an dem unteren Ende des Dünndarms war geschwellt und gerötet. Mikroskopische Untersuchung wurde nicht vorgenommen.

Ein zweites Kaninchen von 2010 g erhielt gleichzeitig 5 ccm, entsprechend 0.25 g Kuchen. Schon nach 13 Stunden erfolgte unbeobachtet der Tod. Harn war überhaupt nicht entleert worden.

Die Sektion ergab verstreute punktförmige Blutaustritte im Netz. Der Tod war eben zu rasch erfolgt, um weitere Veränderungen zustande kommen zu lassen.

Beide Versuche beweisen, dass der fragliche Kokoskuchen einen sehr bedeutenden Gehalt an Rizinus hatte.

Falls dies richtig ist, mussten auch die Blutversuche demgemäss ausfallen. In der Tat genügten 0.2 ccm Auszug, entsprechend 10 mg Presskuchen, um bei 10 ccm 1 %igem Meerschweinchenblut binnen 4 Stunden totale Agglutination herbeizuführen. Bei Menschenblut trat sie nach 20 mg in 6 Stunden ein.

Diese Blutversuche zeigen ebenfalls, dass der zu prüfende Kokoskuchen stark rizinhaltig war.

Ich versuchte zum Schluss noch das Gift aus dem Blute wiederzugewinnen.

Zu diesem Behufe versetzte ich 4 ccm des Auszuges, entsprechend 0.2 g Presskuchen, tropfenweis mit unverdünntem Menschenblut, solange dies noch agglutiniert wurde. Das Agglutinat brachte ich auf ein Filter und wusch es mit physiol. Kochsalzlösung aus. Dann zersetzte ich den Filterrückstand in einem kleinen Reibschälchen mit 2 Tropfen verdünnter Salzsäure, neutralisierte mit Natriumkarbonat und laugte auf dem Filter mit 5 ccm physiol. Kochsalzlösung aus. Das Filtrat wurde morgens 10 Uhr einem Meerschweinchen von 340 g unter die Haut gespritzt. Abends 6 Uhr machte es noch einen ziemlich normalen Eindruck, aber früh wurde es tot vorgefunden.

Die Sektion ergab Blutaustritte im Netz und im Dünndarm, in vielen Schlingen blutiger, dünnflüssiger Darminhalt.

Damit war zur Evidenz erwiesen, dass die die Agglutination bedingende Substanz Rizin war.

Bald darauf erhielt ich von der Versuchsstation in Wiesbaden eine Probe Rizinuskuchen, von der vermutet wurde, dass sie wohl aus derselben Quelle stammen könne wie die obige, und die ebenfalls giftig gewirkt hatte.

25 g dieses Presskuchens wurden mit 100 ccm 0.9 %iger Kochsalzlösung und 10 Tropfen Toluol 24 Stunden laug bei 38° gehalten, dann abgepresst, das Abgepresste neutralisiert, filtriert und der Filterrückstand gewaschen, bis 100 ccm Auszug vorhanden waren. Davon wurden 10 ccm, entsprechend 2.5 g Presskuchen, einem Kaninchen von 1500 g abends unter die Haut gespritzt. Früh wird es tot vorgefunden.

Sektion. An der Injektionsstelle unter der Haut sehr zahlreiche punktförmige Blutaustritte, aber kein Ödem. Im rechten Herzen und zwar namentlich im Vorhof ein sehr grosses fest geronnenes Blutkoagulum. Das grosse Netz, das Bauchfell und der obere Teil des Dünndarmes von aussen stark gerötet. Im Lumen des Dünndarmes 25—30 cm unterhalb des Magens zwei Herde punktförmiger Blutaustritte in die Schleimhaut. Harnblase leer; ihre Schleimhaut stark gerötet.

Bei Blutversuchen mit menschlichem Plazentarblut wirkte noch der Auszug aus 0.25 Presskuchen binnen 2 Stunden total agglutinierend.

Ein weiterer Teil des Auszuges, 40 ccm betragend, wurde mit gleichen Teilen Alkohol gefällt und der Niederschlag nach dem Absaugen 80 Minuten lang im Vakuum bei 50° getrocknet. Der Trockenrückstand wurde sodann in 10 ccm physiol. Kochsalzlösung suspendiert und nach 19stündigem Digerieren bei 38° filtriert. 1 ccm entsprach jetzt 1 g Presskuchen. Schon der zwölfte Teil eines Kubikzentimeters genügte, um in 10 ccm 1 %igen Kaninchenblutes nach $1^1/_2$ Stunde völlige feste Agglutination herbeizuführen.

Zum Schluss wurde einem Kaninchen von 1800 g von dem ungereinigten Auszug eine Injektion von 5 ccm unter die Haut gemacht. Nach

8 Stunden macht es einen kranken Eindruck und nach 10 Stunden wird es tot im Käfig vorgefunden.

Die Sektion ergibt zahlreiche punktförmige Blutaustritte im Ileum und im Wurmfortsatz unter die Serosa. Die Plaques ebenfalls mit kleinen Blutaustritten durchsetzt.

Ein etwas grösseres Kaninchen starb nach Subkutaninjektion von 1 ccm des gereinigten (4 mal stärkeren) Auszugs am 2. Tage. Die anatomischen Veränderungen waren analoge aber geringere.

Durch diese Versuche war der Beweis, dass es sich auch in diesem Falle um rizinushaltigen Kokoskuchen handelte erbracht.

Ein drittesmal, wo ich Kokoskuchen auf Rizinus zu untersuchen hatte, handelte es sich um einen Grossgrundbesitzer Mecklenburgs, der von der Landwirtschaftlichen Hauptgenossenschaft Berlin, Zweigniederlassung Rostock, „nordrussische“ Kokoskuchen bezogen hatte, nach deren sachgemässer Verfütterung schwere Erkrankungen zahlreicher Kühe vorkamen, die zu Notschlachtungen zwangen. Ich wurde vom Vorsitzenden der Zivilkammer des Rostocker Landgerichtes aufgefordert, mich über die Futterkuchen und deren Zusammenhang mit der Erkrankung zu äussern, nachdem vorher sowohl die hiesige Landwirtschaftliche Versuchsstation als das Hamburger Botanische Staatsinstitut sich dahin geäussert hatten, dass Rizinusbestandteile in Spuren in dem Futter nachweisbar seien. Die verklagte Genossenschaft erklärte, gestützt auf Prof. Schmidt in Hamburg, dass so kleine Mengen von Rizinus in Futterkuchen unschädlich seien, ganz abgesehen davon, dass bei dem Auspressen der Kokossamen unter hohem Druck der Rizinussame seine Giftigkeit vollständig verliere. Unter solchen Umständen konnte nur das Experiment entscheiden. Ich prüfte zunächst die der hiesigen Landwirtschaftlichen Versuchsstation seinerzeit zugesandte Probe der fraglichen Kuchen nach. Zweitens liess ich mir von dem Gute des Klägers durch den Inspektor vom Rest der noch vorhandenen Kuchen Proben kommen. Beide Sorten waren auffallend dunkel. Die recht mühsame Untersuchung zahlreicher Proben beider Sorten ergab, dass in diesem Falle die Zusammensetzung der Kuchen keine gleichartige war, sondern dass in den von der hiesigen Versuchsstation bezogenen nebeneinander vorhanden waren 1. völlig rizinusfreie Stücke, 2. Stücke, welche minimale Spuren von Rizinus enthielten, 3. einzelne stark giftige Stücke.

Mit dem neutralisierten Auszug aus den letztgenannten Stücken konnte ich Menschen-, Tauben-, Meerschweinchen- und Kaninchenblut agglutinieren, falls die jeder Blutprobe zugesetzte Auszugmenge auch nur einem einzigen Gramme Presskuchen entsprach. Erhitzen des Auszugs für eine Stunde auf 70° änderte an dem Ergebnis nichts. Die subkutane Einspritzung des Auszugs aus einem Gramm tötete ein Kaninchen von 1900 g nach 31 Stunden.

Die Sektion ergab einzelne Blutaustritte ins grosse Netz, Schwellung und Rötung der Peyerschen Plaques und starke Rötung einzelner Dünndarmschlingen.

Ein Teil des Kuchenauszuges (50 ccm) wurde nachträglich (d. h. nach dem Erstatten des gerichtlichen Gutachtens) für eine Stunde auf 70° erhitzt, mit Alkohol gefällt und der Niederschlag sofort wieder in physiologischer Kochsalzlösung (25 ccm) gelöst. 1 ccm dieser Flüssigkeit tötete nach Einspritzung unter die Haut ein Kaninchen von 1690 g binnen 22 Stunden unter Lähmungserscheinungen.

Der Sektionsbefund war noch etwas prägnanter als der vorige, indem auch die Lymphknoten an der Wurzel des Mesenteriums entzündlich geschwellt und blutrot waren.

Die recht kleine Probe des vom Gute direkt bezogenen Futterkuchens ergab keinerlei Wirkung auf drei gut geeignete Blutarten und keine Vergiftung, obwohl einem erwachsenen Kaninchen der Auszug aus 5 g Kuchen eingespritzt worden war. Dazu stimmt, dass ich auch bei sorgfältigster mikroskopisch-pharmakognostischer Untersuchung keine Rizinusschalen noch Kernbestandteile nachzuweisen vermochte. Allerdings entdeckte ich einige fremde Bestandteile, die aber mit Rizinus keine Ähnlichkeit hatten. Zu meiner Beruhigung sandte ich den Rest des Kuchens nach Wien, wo Hofrat Josef Moeller und Prof. Mitlacher, zwei der besten Kenner pharmakognostischer Verhältnisse, die völlige Abwesenheit von Rizinus bestätigten. Die mir unbekannt gebliebenen Elemente stellten sie als Bestandteile des Samens der Ölpalme, Elaeis guineensis, fest. Diese bedingen keine Giftwirkung.

Um festzustellen, wieviel Rizinussame in einem Kokoskuchen sein muss, um noch mit Hilfe der Blutreaktion erkannt werden zu können, machte ich mir selbst Gemische aus einem Normalkokoskuchen, dessen Ungiftigkeit für Kaninchen ich durch das Mikroskop und durch Einspritzung grosser Dosen (3 g Kuchen entsprechend) vorher dargetan hatte. Teils mischte ich diesen Kuchen in Pulverform mit Rizinussamen, teils machte ich aus beiden Auszüge und mischte diese. Die Gemische wurden z. T. eine Stunde lang bei 70° gehalten. Bei Zumischung von

1 % Rizinus (ölhaltige schalenfreie Kernsubstanz) gelang der Nachweis noch relativ leicht. Die Grenze der Nachweisbarkeit liegt bei 0.2 %. Bei dieser geringen Menge misslang der Agglutinationsnachweis mittels Hundeblut, Katzenblut, Hammelblut, Kalbsblut, Rindsblut, Schweineblut und manchmal selbst mit Menschenblut. Er gelang dagegen sicher bei Anwendung von Taubenblut, Kaninchenblut, Meerschweinchenblut, und zwar gerade bei kleinen Dosen des Extraktes, während grosse Dosen öfter Hämolyse veranlassten. In einigen Fällen war das Agglutinat nicht ganz fest, so dass es beim Aufschütteln verschwunden sein würde. In solchen Fällen zerlegte ich es und wiederholte mit dem freigemachten Rizin den Versuch. Ich führe, um deutlich zu werden, wenigstens einen solchen Versuch in extenso an.

200 g Kokosmehl und 0.4 g schalenfreie, nicht entölte Rizinuskernsubstanz werden in der Reibschale innig miteinander verrieben und dann in einen Literkolben gebracht, der mit 0.9 %iger Kochsalzlösung und 1 ccm Toluol bis zur Marke gefüllt und dann in das Wärmebad bei 38° gebracht wird. Hier bleibt das Gemisch unter häufigem Schütteln 24 Stunden stehen. Dann wird abgepresst, die Flüssigkeit neutralisiert und nach öfterem Schütteln durch ein Saugfilter filtriert. Jeder Kubikzentimeter dieses Filtrates enthält den Auszug aus 200 mg Kokosmehl + 0.4 mg unentölten schalenfreien Rizinussamens. Nach S. 20 finden sich darin höchstens 0.2 mg ölfreie Rizinussubstanz mit 0.002 mg Rizin. Um in dieser Flüssigkeit das Rizin nachzuweisen, mischte ich 10 ccm Kaninchenblut (möglichst serumarmes, wie es durch Absetzen leicht zu gewinnen ist) mit 90 ccm 0.9 %iger Kochsalzlösung. Von diesem Gemisch füllte ich in sieben Reagenzgläser je 1 ccm und setzte zum ersten und letzten, die als Kontrollen dienen sollten, je 9 ccm Kochsalzlösung. Zu Glas II—VI setzte ich 9, 8, 7, 6 und 5 ccm meines Kokos-Rizinusgemisches und füllte dann die Gläser II—VI bis zur Marke mit 10 ccm Kochsalzlösung. Nun wurden sie einmal umgekehrt und blieben dann unberührt bei Stubentemperatur stehen. Schon nach 5 Stunden war die Wirkung sichtbar; ich las sie aber erst nach 24 Stunden ab. Das Ergebnis war folgendes: In Glas V und VI totale feste Hämolyse ohne Agglutination. In II—IV partielle und zwar bei II relativ starke Hämolyse. Am Boden ist zwar in allen drei Gläschen ein etwas kohärenter Bodensatz, aber ein festes Agglutinat ist nicht vorhanden, da die grosse Menge der Kokoseiweisssubstanz entschieden die Festigkeit der Zusammenballung verhindert und gleichzeitig Hämolyse begünstigt. Um mich zu überzeugen, dass in Glas II trotzdem das Gift an den Bodensatz gebunden sei, hob ich vorsichtig mit der Pipette in Glas II die rötliche Flüssigkeit vom Bodensatz ab, füllte ebenso vorsichtig 20 ccm Kochsalzlösung auf und entfernte diese nach 10 Minuten wieder. Alsdann goss ich den Bodensatz auf ein Filter, wusch ihn hier nochmals und zersetzte ihn dann in einem Reibschälchen mit 2 Tropfen verdünnter Salzsäure. Die dabei ihre rote Farbe verlierende und braunschwarz werdende

Masse wird 10 Minuten durchgeknetet und dann mit einigen Tropfen verdünnter Natriumkarbonatlösuug neutralisiert, wobei sie sich ballt und so mit etwas Kochsalzlösung auf eiu ganz kleines Filter gespült. Sobald die helle klare Flüssigkeit abgetropft ist, wird wieder ein wenig Kochsalzlösung aufgetropft und so der Niederschlag ausgelaugt, bis 5 ccm Filtrat sich ergeben haben. Diese werden mit 5 ccm 2 %igem Kaninchenblut versetzt und liefern nach 5 Stunden eine prachtvolle, ganz feste, totale Agglutination ohne eine Spur von Hämolyse.

Dieser Versuch zeigt deutlich, dass grosse Kokosmengen die Rizinuswirkung nicht nur hemmen, sondern auch z. T. in Hämolyse umkehren. Man kann aber auch aus einem solchen unvollkommenen Agglutinationsversuch noch einen durchaus tadellosen machen, wofern man den Niederschlag eines solchen Gläschens zersetzt und mit dem gewonnenen Rizin den Versuch wiederholt.

Der Wichtigkeit der Sache wegen lasse ich noch einen zweiten Versuch folgen.

Hier handelte es sich um eine Mischung von 10 ccm eines 1 Stunde bei 70° gehaltenen Kokosauszuges, der im Kubikzentimeter das Lösliche aus 200 mg Kokosmehl enthielt, mit 1 ccm eines 1 Stunde bei 70° gehaltenen Rizinusauszuges, der das Lösliche aus 5 mg schalenfreien unentölten Samenkernen enthielt. Zu diesem Gemisch wurden 89 ccm 2 %ige Taubenblutkochsalzlösung gesetzt. Nach 24 Stunden hatte sich ein Teil des Hämoglobins der Blutkörperchen gelöst und färbte deu Inhalt des Zylinders bis oben hin rot. Am Boden des Zylinders sass eine dickliche Masse, die sich nach Abhebern der roten Flüssigkeit als unvollkommenes Agglutinat erwies. Es wurde mit Kochsalzlösung zunächst im Zylinder durch Dekantieren und dann auf einem kleinen Filter gewaschen. Alsdann wurde es, genau wie obeu angegeben worden ist, mit verdünnter Salzsäure zersetzt, mit Natriumkarbonat neutralisiert und mit 5 ccm Kochsalzlösung ausgelaugt. Da kein Taubenblut mehr vorhanden war, wurde das Filtrat mit 5 ccm 2 %igem menschlichen Leichenblut versetzt und ergab nach 10 Stunden totale, sehr feste Agglutination ohne eine Spur von Hämolyse.

In einem dritten Versuche wurde das gleiche Rizinus-Kokosgemisch mit 89 ccm 1 %igem Kaninchenblut versetzt und das aus dem zersetzten Agglutinate wiedergewonnene Rizin einem grossen Kaninchen von 2300 g unter die Haut gespritzt. Das Tier starb nach 14 Stunden und ergab Schwellung der Plaques und Blutaustritte im Mesenterium.

Alle diese Versuche zeigen, dass sich in einem Gemisch von Kokoskuchen mit nur 0.2 % Rizinuskernen der Nachweis der Verunreinigung mit diesem Gift biologisch mit Blut und toxikologisch mittels Einspritzung am Tier noch mit Sicherheit führen lässt. Dass beim Verfüttern von 4 kg eines solchen Gemisches an Milchkühe schwere Vergiftungserscheinungen auftreten können, zeigt obiger Prozess

zur Genüge. 4 kg waren nämlich jeder Milchkuh von dem S. 48 erwähnten Futterkuchen täglich verabfolgt worden.

Der Umstand, dass nur einige Kuchen stark giftig, andere nur spurweis rizinushaltig und noch andere völlig rizinusfrei waren, lässt vermuten, dass die giftige Beimischung eben nur einen kleinen Teil des grossen in der Fabrik auf einmal gepressten und in ein Schiff verladenen Kokosvorrats betroffen hat. Dies kann in der Presserei geschehen sein, falls sie vorher Rizinussamen gepresst hat. Es kann aber auch in den Tropen, wo man als Zaun um Gehöfte und Felder gern eine Reihe Rizinusstauden bezw. -bäume[1]) säet, die Rizinusverunreinigung vorgekommen sein. Einige der Fruchtkapseln dieses Rizinuszaunes kommen sehr leicht unter die geernteten Feldfrüchte bezw. unter die Kokosnüsse und werden in den Pressereien achtlos mit gepresst. Irgend eine Schuld braucht bei solchen Rizinusbeimischungen also niemanden zu treffen. Es wäre aber wünschenswert, wenn ein Gesetz gegeben würde, welches den Händler von Futterkuchen zwingt, nicht nur den Nährwert seiner Kuchen durch Analysen zu belegen, sondern auch deren Ungiftigkeit sowohl durch mikroskopische Untersuchung als auch durch geeignete biologisch-pharmakologische Versuche prüfen zu lassen. Dass selbst dabei die Stichproben aus zufällig giftfreiem Material bestehen können, gebe ich zu; dies wird aber doch aller Wahrscheinlichkeit nach nur sehr selten vorkommen.

In der Literatur findet sich bereits eine Kokoskuchenvergiftung, bei der der Nachweis des Rizinusgehaltes auf pharmakologischem Wege erbracht wurde. Wie Pingel[2]) berichtet, erkrankte ein ganzer Milchvieh- und Schweinebestand bei Fütterung mit Kokoskuchen und einige Tiere starben sogar. Diese Erscheinungen bestanden in Krämpfen, Diarrhöe, Versiegen der Milchsekretion und Apathie. Nachdem die mikroskopische Untersuchung einen hohen Gehalt an Rizinusabfällen ergeben hatte, wurden Kaninchen mit dem fraglichen Kokoskuchen gefüttert und starben spätestens nach 18 Stunden. Die Sektion der Tiere ergab schwere entzündliche Veränderungen des Magendarmkanales.

---

[1]) Rizinus ist nur bei uns einjährig, in den Tropen wird er zum Baum und dauert aus.

[2]) Jahresberichte der agrikulturchemischen Versuchsstation Pommritz Jahrg. 1901.

7. **Sesamkuchen** wurde ebenfalls im letzten Jahre mir zum Zweck der Untersuchung auf Rizinusbestandteile, und zwar von der Versuchsstation in Harleshausen bei Cassel, zugesandt. Bei dem Klostergutspächter in Offenhausen waren nach Genuss solcher Kuchen acht Stück Vieh erkrankt. Die genannte Versuchsstation konnte in dem Kuchen ausser Unkräutern auch Rizinusbestandteile in allerdings nur sehr geringer Menge nachweisen.

Von dem mir sowohl von Harleshausen als von Offenhausen zugesandten Sesamkuchenmehl wurden 100 g mit 400 g physiol. Kochsalzlösung 24 Stunden lang bei Anwesenheit von Toluol im Wärmeschrank bei 38° ausgezogen, der Brei gepresst, die abgepresste Flüssigkeit neutralisiert und filtriert. Das Filtrat wurde z. T. direkt verwendet, z. T. mittels des doppelten Volumens von Alkohol gefällt und der Niederschlag in einer Menge, die 50 g Kuchen entsprach, einem erwachsenen Huhn auf einmal verfüttert. Es blieb ganz gesund. Ein anderer Teil des Niederschlages wurde so konzentriert als möglich in physiol. Kochsalzlösung gelöst und damit Agglutinationsversuche an 2%igem Kaninchen-, Menschen- und Meerschweinchenblut gemacht. Obwohl die zu den einzelnen Versuchen benutzte Menge, auf Presskuchen berechnet, zwischen 0.1 und 5.0 schwankte, trat in keinem Versuche Agglutination ein. Einspritzungen des Originalfiltrates und der Lösung des Alkoholniederschlages in Mengen, die 5 g Presskuchen entsprachen, wirkten auf Kaninchen gar nicht. Es trat nicht einmal Eiweiss im Harn auf.

Auf Grund dieser Versuche musste ich mein Gutachten dahin abgeben, dass eine Verunreinigung des Sesamkuchens durch unentgiftete Rizinusbestandteile nach meinen Methoden nicht erweislich sei.

Natürlich wurde dies der Anlass, mich mit Normalsesamkuchen und mit Gemischen solchen Normalkuchens mit Rizinus zu beschäftigen.

Ich stellte zunächst fest, dass Sesamkuchenauszüge in gereinigtem Zustande auf die üblichen Blutarten nicht an sich agglutinierend einwirkt, also namentlich nicht auf Blut der Taube, des Kaninchens, des Meerschweinchens, des Menschen, des Hundes, der Katze und des Pferdes. Kalbsblut schien unter Umständen eine Art Ausflockung zu geben und ist daher bei Sesamuntersuchungen auf Rizinus lieber ganz zu meiden.

Nun erst ging ich zum Nachweis von mit Rizinus versetztem Sesam über.

Ich extrahierte ein Gemisch von 200 g Sesammehl und 0.4 g schalenfreie unentölte Rizinuskerne mit einem Liter physiol. Kochsalzlösung 24 Stunden lang bei 38°, presste ab, neutralisierte und filtrierte. Von dieser Flüssigkeit mischte ich 5 ccm mit 5 ccm 2 %igem Kaninchenblut. Binnen 24 Stunden erfolgte aber keine deutliche Agglutination, übrigens auch keine Hämolyse. Ich musste also grössere Mengen der Giftlösung und konzentrierteres Blut verwenden. Zu diesem Behufe mischte ich 98 ccm der rizinhaltigen Sesamlösung mit 2 ccm 10 %igem serumarmen Kaninchenblut. Nach 24 Stunden war ein leidlich agglutinierter Niederschlag entstanden. Diesen trennte ich von der darüberstehenden Flüssigkeit, wusch ihn wiederholt im Zylinder mit 0.9 %iger Kochsalzlösung durch Dekantieren, zersetzte ihn mit 2 Tropfen verdünnter Salzsäure, neutralisierte das Gemisch nach 1 Stunde und laugte es auf dem Filter mit 6.5 ccm Kochsalzlösung aus. Davon versetzte ich 1 ccm mit 9 ccm 1 %igem Kaninchenblut und 0.5 ccm mit 9.5 ccm desselben Blutes. Im ersten Gläschen erfolgte binnen 4 Stunden totale feste Agglutination, im zweiten erfolgte sie über Nacht.

Somit war in der ursprünglichen Flüssigkeit trotz 500-fachem Überschuss von Sesam Rizinus durch den doppelten Agglutinationsversuch nachgewiesen. Ich will nicht verhehlen, dass der Versuch nur mit Tauben- und Kaninchenblut sicher auskam. Die 5 ccm, welche bei der Zersetzung des Agglutinats noch übrig blieben, wurden zu einem Kaninchenversuch verwendet. Das 1300 g schwere Tier starb 13 Stunden nach der Einspritzung an einem Krampfanfall. Der anatomische Befund war gering.

Somit war also auch durch den Tierversuch in einem Gemisch, das nur 0.2 % Rizinussamen neben 99.8 % Sesam enthielt, das Gift nachgewiesen.

8. **Leinkuchen** sind der Literatur nach mehrmals mit Rizinus verunreinigt gewesen.

So erkrankten nach Regenbogen[1]) 35 Pferde durch mit Rizinuskuchen verunreinigtes Leinsamenmehl an Kolik, Durchfall, Unruhe, Schwäche der Hinterbeine und Benommenheit. Zwei Tiere gingen daran zugrunde und ein drittes musste getötet werden. Die Sektion ergab Entzündung des Magens und des Zwölffingerdarms, akute Nephritis, parenchymatöse Degeneration des Herzmuskels, Hirnhyperämie, Hirnödem und Lungenödem. Vigener[2]) beschreibt eine Verunreinigung von Leinkuchen durch

---

[1]) Berliner tierärztliche Wochenschr. 1888; zitiert nach Bierbaum l. c. S. 60.

[2]) S. der Landwirtschaft 1874, No. 59; zitiert nach Bierbaum l. c. S. 60.

schlecht gereinigte, vorher zum Rizinuspressen benutzte Presssäcke. Sämtliche Kühe und Schweine, die von diesem Futter frassen, erkrankten. Nach Renner[1]) erkrankten zahlreiche Kühe, die mit Rizinuskuchen stark verunreinigten Leinkuchen gefressen hatten, an Appetitlosigkeit, Versiegen der Milch, Diarrhöe, Apathie, Benommenheit und Krämpfen, genasen jedoch sämtlich nach 2—3 Tagen.

Man sieht, dass Verunreinigung von Leinsamen durch Rizinus durchaus in das Bereich der Möglichkeit gehört. Mir selbst ist jedoch noch kein Fall vorgekommen. Die von mir hergestellten Gemische von Leinkuchen mit Rizinus zu untersuchen, wollte anfänglich gar nicht gelingen, da das Filtrieren der konzentrierten Auszüge stets misslang. Bei dem hohen Schleimgehalt ist dies ja leicht verständlich. Ich half mir dann in der Weise, dass ich auf das Filtrieren ganz verzichtete, den Brei in hohe Gefässe goss und nach dem Absetzen die obersten relativ bodensatzfreien Flüssigkeitsmassen durch Gaze presste und die so gewonnene trübe Flüssigkeit mit Alkohol zu gleichen Teilen versetzte. Der sich sofort bildende Niederschlag wurde gesammelt, abgepresst und sofort wieder in physiol. Kochsalzlösung gelöst. So kam ich ziemlich rasch zum Ziel. Mein Ergebnis lässt sich in den Satz zusammenfassen, dass Leinsamenauszug an sich auf Blut nicht einwirkt, dass jedoch Rizinuspresskuchen, wenn er auch nur ein Prozent des Leinkuchens ausmacht, sich leicht und sicher durch die Agglutinationsprobe nachweisen lässt. Bei kleineren Mengen muss der Tierversuch mit zu Hilfe genommen werden. Die beiden bei diesen Versuchen von mir benutzten Blutarten waren Taubenblut und Kaninchenblut.

9. **Baumwollsamenkuchen** sei zum Schluss noch kurz erwähnt, obwohl mir Rizingehalt dieses Futtermittels weder aus eigener Erfahrung, noch aus der Literatur bekannt ist. Ich stellte fest, dass Baumwollsamenauszüge an sich nicht agglutinieren, wohl aber, wenn auch nur auf 800 g Baumwollsamen ein einziges Gramm Rizinusmehl vorhanden ist. Zu diesen Versuchen benutzte ich Kaninchenblut.

---

[1]) Mitteilungen aus der tierärztlichen Praxis im preussischen Staate Jahrg. 22, S. 178.

VI. Über den Nachweis des Rizins in einem Futtermittel, welches an sich ein Agglutinin enthält.

Weitaus am häufigsten kommt Rizinus als Verunreinigung im Erdnussmehl vor. Gerade deshalb muss ich auf diesen mir wiederholt zur Untersuchung auf Rizinus zugeschickten Kraftfutterstoff ausführlicher eingehen. Um verständlich zu werden, muss ich weiter ausholen.

1. Über Phasine im allgemeinen.

Mit dem Ausdruck Phasine habe ich durch O. Wienhaus[1]) sämtliche ungiftigen Stoffe aus Pflanzensamen zusammenfassen lassen, welche nach den von mir S. 2 gegebenen Verfahren der Rizindarstellung gewonnen werden können und den Blutkörperchen gegenüber sich rizinartig verhalten. Die Kenntnis dieser Stoffe reicht noch nicht weit zurück.

Von Autoren, die auf diesem Gebiete gearbeitet haben, sind vor allen Landsteiner und Raubitschek[2]) einerseits und v. Eisler und v. Portheim[3]) andererseits zu nennen.

Landsteiner und Raubitschek fanden gleich in vier Gattungen der Papilionaceae solche ungiftigen Blutkörperchen-Agglutinine, nämlich in Phaseolus vulgaris, Pisum sativum, Lens esculenta und in einer Vicia.

v. Eisler und v. Portheim fanden analog wirkende ungiftige Agglutinine in der Familie der Solanaceen, und zwar in Datura ferox, Datura gigantea, Datura laevis, Datura Leichhardtii, Datura Metel, Datura Stramonium, Datura Wrightii und Datura Ceratocaula. Da die Datura-

---

[1]) Zur Biochemie des Phasins. Biochem. Zeitschr. Bd. 18, 1909, Heft 3—5.

[2]) Landsteiner und Raubitschek, Bakt. Zentralbl. Bd. 45, 1908, Heft 7. — K. Landsteiner, Hämagglutination. In Handb. d. Biochemie des Menschen und der Tiere Bd. II, 1909, S. 395. — K. Raubitschek, Die Hämagglutination. Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. exp. Ther., Referate 1910, II. — Derselbe, Hämagglutinine pflanzlicher Provenienz u. ihre Artkörper. Handb. d. Techn. u. Methodik der Immunitätsforsch., I. Ergänzungsband 1911, S. 625.

[3]) v. Eisler und v. Portheim, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. exp. Ther. 1908, Teil I, Abt. 1, S. 151. — Dieselben, Ber. d. Deutschen Bot. Ges. Jahrg. 29, 1911, Heft 7, S. 419.

arten für die Ernährung der Haustiere gar nicht in Frage kommen, so haben wir es also im wesentlichen mit Bohne, Erbse, Linse, Wicke hier zu tun.

Es schien mir von grossem Interesse, in der Familie der Papilionaceen weiter zu forschen und die Ergebnisse der Genannten zu bestätigen. Dies habe ich mit Wienhaus getan. Da es uns überflüssig schien, für die ungiftige agglutinierende Substanz aus jedem Pflanzensamen einen eignen Namen zu geben, so haben wir den Sammelnamen Phasin dafür eingeführt, der von der am genausten studierten Samenart, nämlich von Phaseolus vulgaris, abgeleitet ist. Wir stellten das Phasin zunächst aus dieser Samenart dar und überzeugten uns von seiner starken Wirksamkeit. Ich habe sowohl für Phaseolus als für zahlreiche andere Papilionaceensamen immer eine und dieselbe sehr einfache Darstellungsmethode benutzt, die sich an die zweite (s. S. 2) Methode der Rizingewinnung anschliesst. Die betreffenden Samen wurden, falls es möglich war, geschält und das Samenpulver mit der fünffachen Menge 0.9 %iger Kochsalzlösung nach vorherigem Zusatz von etwas Toluol 24 Stunden lang bei 38 ° digeriert und dann abgepresst. Die Pressflüssigkeit wurde neutralisiert und filtriert. Das Filtrat wurde mit dem gleichen Volumen 96 %igem Alkohol versetzt und gewartet, ob ein Niederschlag entstand. War er sehr unbedeutend, so wurde mit dem Alkoholzusatz fortgefahren, bis ein filtrierbarer Niederschlag sich bildete. Dieser mit Alkohol nachgewaschene Niederschlag wurde abgesaugt und auf dem Filter oder auf Tonplatten im luftverdünnten Raume getrocknet und pulverisiert, noch ehe er alles Wasser verloren hatte. Vor der Benutzung wurde der Wassergehalt, Aschengehalt und der in physiol. Kochsalzlösung unlöslich gewordene Anteil bestimmt und in Abrechnung gebracht.

Was das Phasin von Phaseolus vulgaris anlangt, so habe ich diese Versuche kürzlich wieder aufgenommen. Mit einem schon 3 Jahre alten Präparate, das 6.1 % Asche enthielt, bekam ich die in nachstehender kleinen Tabelle enthaltenen Werte.

(Siehe die Tabelle auf S. 58.)

Bei Vollblut sind die Zahlen nicht so hoch wie bei Blutkörperchen. Von andern Blutarten, welche sich agglutinieren lassen, nenne ich in der Reihenfolge ihrer Brauchbarkeit das der Taube, des Pferdes, des Meerschweinchens, des Schweines,

Tabelle III.

Grenze der Wirksamkeit für Phaseolusphasin.

Nummer	Blutart:	Totale Agglutination erfolgte noch bei
1	Katzenblutkörperchen	1 : 271 588
2	Hundeblutkörperchen	1 : 67 897
3	Menschenblutkörperchen	1 : 54 274
4	Hühnerblutkörperchen	1 : 67 897
5	Kaninchenblut	1 : 66 666
6	Rattenblut	1 : 2 715

des Sperlings, des Igels, des Frosches, des Flussales und des Karpfens. Rinderblut wird nur von grossen Dosen unseres Phasins beeinflusst und zwar mehr hämolysiert als agglutiniert. Ein Blut, welches sich durch Bohnenphasin gar nicht beeinflussen liesse, habe ich überhaupt nicht gefunden.

Die Technik der Versuche war dieselbe wie bei den S. 7 besprochenen Rizinusversuchen. Nach meinen Angaben hat die Firma Merck schon 3 vor Jahren Phasin dargestellt, das noch heute brauchbar ist. Wie das Rizin, so wirkt auch das Bohnenphasin nicht etwa nur auf Blutzellen, sondern auch auf Zellen vieler anderer Gewebe, so z. B. auf Gehirnzellen agglutinierend. Ich muss mir aber versagen, an dieser Stelle auf diese Wirkungen einzugehen.

Von den sehr zahlreichen Varietäten des Phaseolus vulgaris prüfte ich mit Wienhaus die gewöhnliche weisse Bohne, die Flagelot-Wachsbohne, die Schlachtschwert-Stangenbohne, die Holsteiner Perlbohne und die römische Wachsbohne. Sie wirkten alle, aber natürlich nicht gleich stark. Von andern Phaseolusarten wurden mehrere, wie z. B. Phaseolus Mungo, Phaseolus erectus, Phaseolus ensiformis gigas und die echte Mondbohne, Phaseolus lunatus geprüft; aber der Frfolg war fast Null. Man kann also keineswegs behaupten, dass, wenn man eine Art phasinreich gefunden hat, dies ohne weiteres auch für alle andern Arten derselben Gattung Geltung habe, und natürlich noch weniger für die ganze Unterfamilie oder Familie. So ist bei den Solanaceen nur Datura phasinhaltig, aber Hyoscyamus und andere nahe

verwandten Gattungen nicht. Für Erbsen und Linsen und verschiedene Spielarten derselben konnten wir den Gehalt an Phasin bestätigen. Die Saubohne, Vicia faba, wurde von uns ebenfalls in verschiedenen Varietäten untersucht, so die amerikanische Puffbohne, die schottische Grantonbohne, die Weserpferdebohne, die Teverolle de Picardie, die Teverolle de Lorraine, die Vicia mazagana, Vicia unica, Vicia makrochloris, Vicia atra und Vicia circularis. Alle diese Varietäten der Saubohne bezw. die ihr nahe verwandten Arten enthalten, wie wir fanden, ein Phasin, dessen Wirkung bei keiner der Blutarten, welche probiert wurden, versagte. Von andern Viciaarten fanden wir phasinhaltig die Futterwicke, Vicia sativa und zwar auch die spanische, die aus Finnland, die aus Dalekarlien und die aus Kapetown, ferner die Vicia leucosperma, Vicia villosa, Vicia hybrida, Vicia narbonensis, Vicia lutea graminea, Vicia segetalis und Vicia pseudocracca. Mit Fr. Assmann[1]) wies ich Phasine auch noch in Platterbsen, und zwar in Lathyrus odorus, Lathyrus vernus und Lathyrus tingitatus nach. Die dabei mit Erfolg benutzten Blutarten waren Menschenblut, Katzenblut, Pferdeblut, Hammelblut und Aalblut. Die Bohnen der Soja hispida enthalten, wie wir fanden, ein recht stark agglutinierendes Phasin. Lafayette B. Mendel[2]) in New Haven (Connecticut) hat Phasine auch noch in Caragana arborescens, Baptisia versicolor, Gymnocladus canadensis, Robinia Pseudacacia, Trifolium pratense, Phaseolus multiflorus, Vicia gigantea und in Wistaria sinensis nachgewiesen. Alle diese Pflanzen gehören in die Klasse der Papilionaceen. Ich werde in einem späteren Teile dieser Arbeit auf mehrere dieser Phasine, mit denen ich mich ebenfalls beschäftigt habe, zurückkommen. Hier zunächst nur noch die bemerkenswerte Tatsache, dass Mendel auch in einem Vertreter der Klasse der Cruciferae, nämlich in Hesperis matronalis ein Agglutinin fand. Ich habe die Samen der Nachtviole ebenfalls auf Phasin verarbeitet, fand die dabei gewonnene Substanz aber völlig unwirksam. Ich muss daher Mendels Behauptung, dass auch unter den Kreuzblütern phasinhaltige

[1]) Beiträge zur Kenntnis pflanzlicher Agglutinine. Pflügers Arch. Bd. 137, 1911, S. 489.

[2]) Archivio di Fisiologia vol. 7, 1909, p. 168 (Fano-Festschrift).

Pflanzen sich finden, als bis jetzt noch nicht bestätigt ansehen. Auch in der Klasse der Schmetterlingsblüter enthalten keineswegs alle Gattungen ein Phasin. So habe ich, um nur einige zu nennen, z. B. die Samen des Hartheu, Trigonella Foenum graecum, des Goldregen, die von Cajanus indicus, der Kronenwicke, Coronilla scorpioides und die des gewöhnlichen Wiesenklee, Trifolium pratense — letztere entgegen der Angabe Mendels — phasinfrei gefunden. Der Verwandtschaft mit Rizinus wegen habe ich auch die Samen zweier einheimischen Euphorbiaceen, Euphorbia exigua und Euphorbia pilosa untersucht, aber frei von Agglutinin gefunden. Wie das Rizin auch auf mit Formalin leicht angehärtete Blutkörperchen wirkt, so tun dies auch die Phasine. Wie Rizin auch auf ausgelaugte Stromata wirkt, so ist dies auch bei den Phasinen der Fall; es bildet sich zwar nicht ein kompaktes grosses Koagulum, wohl aber eine Unzahl kleiner Klümpchen. Die Einspritzung von Phasinen unter die Haut von Katzen, Meerschweinchen und Kaninchen in der hundertfachen, ja tausendfachen Menge der vom Rizin tödlichen Dose rief keine Störungen des Wohlbefindens hervor. Die Unterscheidung der Phasine in den Futtermitteln unserer Haustiere, also z. B. in Bohnenmehl, vom Rizin kann daher durch den Einspritzversuch leicht gemacht werden, während der einfache Agglutinationsversuch zu den gröbsten Irrtümern führen und Rizin vortäuschen würde. Die Angabe, dass in den gewöhnlichen Futtermitteln unserer Haustiere keine agglutinierenden Stoffe vorkämen, ist irrig. Ich habe nun gefunden, dass in Wicken- und Saubohnenmehl das Agglutinin durch einstündiges Erhitzen des betreffenden Auszugs auf 70° seine agglutinierenden Wirkungen völlig verliert. Bei beiden tritt statt dessen eine hämolytische Wirkung auf. Falls bei diesen 2 Futtermitteln nach dem einstündigen Erhitzen auf 70° die agglutinierende Wirkung auf Blutkörperchen andauert, ist Verdacht vorhanden, dass Rizinus anwesend ist. Es ist dann zur Kontrolle der Versuch mit Subkutaninjektion zu machen.

Bei Bohnenphasin aus Phaseolus hat schon Wienhaus ganz richtig angegeben, und ich habe es jetzt von neuem bestätigt, dass einstündiges Erhitzen auf 70° die agglutinierende Kraft der Auszüge ganz und gar nicht be-

einflusst. Im Gegenteil ist dies die bequemste Methode, sich eine sterile, gut filtrierbare Lösung von Phaseolusphasin herzustellen. Auch Erbsen- und Linsenphasin verhalten sich ähnlich. Hier muss also unter allen Umständen zur Entscheidung, ob Rizinus vorliegt, noch ein weiterer Versuch gemacht werden. Ich habe nämlich gefunden, dass das Phasin von Erbse, Linse und Wicke bei 70° für einige Blutarten seine Wirkung behält, für andere aber nicht. So wirken diese drei Phasine nach einstündigem Erhitzen auf diese Temperatur noch prompt auf Kaninchenblut, auf Taubenblut aber gar nicht mehr. Phaseolusphasin wirkt dagegen, wie schon gesagt wurde, nach dieser Erhitzung noch auf alle Blutarten agglutinierend. Bei einstündigem Erhitzen auf 75° wirken Erbsen-, Linsen- und Wickenphasin überhaupt nicht mehr, Phaseolusphasin aber wohl noch. Um Phaseolusphasin von Rizin zu unterscheiden, bedarf es daher entweder des Präzipitationsversuches mittels Rizinserum oder des Einspritzversuches am Tier. Dass Phaseolus-, Erbsen- und Linsenphasin mit Rizinserum keinen Niederschlag geben, wurde durch besondere Versuche von mir festgestellt. Wicken- und Saubohnenphasin geben übrigens mit Rizinserum auch keinen.

Mit Hilfe der genannten Methoden lässt sich also in allen genannten Hülsenfrüchten Rizin sicher ermitteln, in Bohnenmehl von Phaseolus vulgaris und ihm nahestehenden Varietäten aber nicht ohne den Tierversuch oder den Versuch mit Rizinserum.

Ganz verkehrt wäre es, wenn man Rizin lediglich durch die Stärke der Agglutination von den Phasinen unterscheiden wollte. So wirkte z. B. aschefrei gerechnetes, von mir dargestelltes Linsenphasin noch bei 1:100000 auf Hunde- und Igelblut total agglutinierend ein. Auch die weiter unten noch zu besprechenden Phasine besitzen z. T. eine ausserordentlich starke Agglutinationswirkung für einzelne Blutarten.

Zum Schluss ist noch zu erwähnen, dass alle Phasine genau wie das Rizin aus ihrer Verbindung mit dem Stroma der roten Blutkörperchen durch verdünnte Salzsäure wieder freigemacht werden können. Neutralisiert man den Brei nach einiger Zeit und filtriert, so geht das freigemachte Phasin ins Filtrat und kann sofort zu einem neuen Agglutinationsversuche benutzt werden. In dieser Beziehung ähneln also die Phasine dem Rizin ausserordentlich.

2. Über Darstellung und Wirkung des Erdnussphasins.

Im Samen von Arachis hypogaea ist schon wiederholt nach einem Agglutinin gesucht worden. Der erste, der eins darin fand, war ich selbst. In meinem Lehrbuch der Intoxikationen[1]) heisst es: „In dem Erdnusskuchen lässt sich ein für einzelne Blutarten agglutinierend wirkender Stoff nachweisen.“ Der Name Phasin wurde von mir erst später eingeführt. Unter Nichtachtung meiner Angabe äussern sich Miessner und Rewald[2]) in einer sehr eingehenden Arbeit über Rizinusnachweis in Futterkuchen: „Es kann als erwiesen angenommen werden, dass in den bei uns gebräuchlichsten Futtermitteln aus Pressrückständen (wie Rübkuchen, Baumwollsaatmehlkuchen, Leinkuchen, Erdnusskuchenmehl, Sonnenblumenmehl und Bohnen) keine Körper enthalten sind, die eine Konglutination von roten Blutkörperchen hervorrufen.“ Dass dieser Satz für Bohnen gänzlich irrig ist, man mag nun darunter Phaseolus oder Faba verstehen, ist vorhin schon dargetan. Dass er auch für Erdnussmehl irrig ist, soll das nachstehende zeigen. Auch Lafayette Mendel[3]) hat Erdnussmehl mit Hilfe von nicht weniger als elf Blutarten untersucht und konstatiert, dass keine dieser Blutarten agglutiniert werde. Auch ich selbst habe bei einigen mit Wienhaus angestellten Versuchen unter Benutzung von drei Blutarten, die gerade zur Verfügung standen, keine Spur von Agglutinin in der Erdnuss gefunden. Zum Glück hat mich dies jedoch nicht abgehalten, meine Versuche vom Jahre 1906 weiter fortzusetzen und zwar erst mit Herm. Feuerhack,[4]) dann weiterhin allein.

Sämtliche Versuche wurden erst mit Erdnussauszügen, dann mit gereinigtem Erdnussphasin angestellt. Das Phasin wurde in der Weise dargestellt, dass das entfettete Erdnussmehl mit der fünffachen Menge 0.9 % Kochsalzlösung und etwas Toluol 24 Stunden bei 38 ° ausgezogen wurde. Die durch Abpressen des Breies gewonnene Flüssigkeit wurde mit Natriumkarbonat neutralisiert, filtriert; das Filtrat wurde mit dem

[1]) Zweite Aufl. Bd. 2 (Stuttgart 1906), S. 594.

[2]) Die Konglutination der roten Blutkörperchen durch Rizinussamen. Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. exper. Ther. Bd. 2, 1909, S. 345.

[3]) Archivio di Fisiologia vol. 7, 1909, p. 170.

[4]) Über Erdnussphasin und Rizin. Diss. Rostock, 1912.

doppelten Volumen Alkohol gefällt, rasch vom Alkohol befreit und getrocknet. Das so gewonnene Präparat enthielt 8.81 % Asche und 12.46 % Feuchtigkeit. Zum Gebrauch wurde es mit 0.9 % Kochsalzlösung in der Reibschale 1 : 100 angerieben und nach 24stündigem Stehen filtriert. Der ungelöst bleibende Teil wurde in Abzug gebracht.

Sowohl der Erdnussauszug als auch das Phasin hatten keine Spur von agglutinierender Einwirkung auf das Blut von Meerschweinchen, Ratte, Pferd, Hund, Taube, Huhn und Seehase. Nicht in allen, aber in der Mehrzahl der Fälle wurde auch Rinderblut nicht beeinflusst, in einigen wenigen Fällen dagegen wieder sehr stark. Bei Ziegenblut kam sowohl Agglutination als Hämolyse vor. Langes Stehen des Blutes schien bei Rinderblut den positiven Ausfall der Versuche zu begünstigen.

Stets positiv war dagegen der Ausfall der Agglutinationsprobe mit genügend starken Lösungen von reinem Phasin auch bei ganz frischem Blut des Schweines, der Katze, des Kalbes, des Hammels, des Kaninchens und des Menschen. Dass die Erdnuss ein Agglutinin enthält, ist mithin sicher erwiesen.

Gegen Pepsin (mit Salzsäure), gegen Trypsin (mit Natrium carbonicum) und gegen Papain erwies sich das Erdnussphasin bei 48stündiger Einwirkung im Brüteschrank wie das Bohnenphasin resistent.

Bei innerlicher Eingabe, sowie bei Einspritzung unter die Haut von Kaninchen, Meerschweinchen und eines Kalbes rief das Erdnussagglutinin keine Störungen der Gesundheit hervor. Es gehört also infolge seiner Ungiftigkeit durchaus in die Gruppe der Phasine und zum Glück in die Untergruppe der bei 70° binnen einer Stunde völlig denaturierten.

3. Über die Unterscheidung des Erdnussphasins vom Rizin in Gemischen.

Ich habe mir viele Male Gemische teils von Erdnussmehl und Rizinusmehl, teils von Erdnussauszug und Rizinusauszug gemacht und festgestellt, wie gross der Überschuss an Erdnuss sein darf, um darin noch scharf das Rizin nachzuweisen. Die Methode des Nachweises kann eine zweifache sein. Entweder

extrahiert man bei 38°, muss aber dann eine Blutart verwenden, auf die Erdnussphasin ohne Einwirkung ist; oder man extrahiert bei 70° bezw. man erhitzt den fertigen Auszug, welcher Rizinus und Erdnuss enthält, für eine Stunde auf 70° C., kann dann aber jede beliebige Blutart verwenden, da ja das Erdnussphasin unwirksam geworden ist. Eine völlige Ausfällung erfolgt übrigens bei 70° keineswegs. Ich will für beide Fälle ein Beispiel anführen.

15 ccm einer Mischung, die in jedem Kubikzentimeter das Lösliche aus 200 mg Erdnusskuchenmehl und 0.4 mg Rizinussamen (schalenfrei, aber nicht entölt) enthält, werden mit 10 ccm 2 %iger Taubenblutkörperchensuspension mittags gemischt. Es bildet sich schon abends eine deutliche Agglutination aus, die am andern Morgen total ist. Die über dem Agglutinat stehende Flüssigkeit wird jetzt entfernt, das Agglutinat mit 0.9 %iger Kochsalzlösung mehrmals durch Dekantieren gewaschen und dann auf ein Filter gebracht. Nach dem Abtropfen der letzten Tropfen Waschflüssigkeit wird der Filterrückstand in einer kleinen Reibschale mit 1 ccm Wasser, dem 3 Tropfen verdünnter Salzsäure zugesetzt worden sind, verrieben. Eine Stunde später wird mit Natriumkarbonat neutralisiert, wobei sofort eine feste braune Masse sich absetzt und diese liefert, auf ein Filter gebracht und kubikzentimeterweis mit physiologischer Kochsalzlösung nachgewaschen, ein helles, kaum gelbliches Filtrat. Zu diesem werden, nachdem es auf 8 ccm gebracht ist, 2 ccm 5 %ige Menschenblutsuspension gesetzt und als Kontrolle zu 8 ccm physiologischer Kochsalzlösung ebenfalls 2 ccm solcher Suspension. Nach 18 Stunden ist die Kontrollprobe unverändert, die Hauptprobe aber agglutiniert. Auf ein Filter gegossen, lässt sie eine farblose Flüssigkeit ins Filtrat gehen.

Dieser Versuch zeigt, dass in Erdnusskuchen Rizin noch nachweisbar ist, auch wenn die Erdnussmenge die des Rizinus 500mal übertrifft. Zur Verwendung kamen 2 Blutarten, von denen die erste nicht auf Erdnussphasin reagiert.

In einem andern Falle mischte ich Rizinus und Erdnuss ebenfalls im Verhältnis von 1 : 500, erhitzte aber den Auszug des Gemisches für eine Stunde auf 70°. Auch hier gelang es mir, durch Zusatz von Taubenblut das Rizin an dieses zu binden. Es erfolgte zwar keine feste Kuchenbildung; aber immerhin haftete der Bodensatz, der sich nach 16stündigem Stehen gebildet katte, so fest aneinander, dass ich die darüberstehende Flüssigkeit abpipettieren und mehrmals einige Kubikzentimeter 0.9 %ige Kochsalzlösung aufbringen konnte. Alsdann wurde zersetzt. Obwohl nur 5 mg Rizinussamen angewandt worden waren, erhielt ich eine Flüssigkeit, von der schon die Hälfte genügte, um in 5 ccm 2 %igem Menschenblut binnen 6 Stunden feste Agglutination hervorzurufen.

Das Gesagte zeigt, dass es wohl möglich ist, in Erdnusskuchen zugesetztes Rizinuspulver oder in Gemischen von Erdnuss- und Rizinusauszügen milligramm-

matische Mengen von Rizinus wiederzufinden und nach der biologischen Methode zu isolieren.

Erst nachdem dies festgestellt war, konnte ich daran gehen, eingesandte fragliche Erdnusskuchen auf Rizinus zu untersuchen.

4. Über die Untersuchung einiger eingesandter giftiger Erdnusskuchen.

In den Jahren 1911 und 1912 habe ich wiederholt Erdnusskuchen, nach deren Verfütterung heftige Durchfälle und sonstige für Rizin charakteristische Erscheinungen eingetreten waren, zu untersuchen gehabt. Es genüge, den jüngsten dieser Fälle etwas ausführlicher mitzuteilen.

Am 4. Mai 1912 meldete mir der Vorstand der Landw. Versuchsstation Hohenheim, dass dort vor einiger Zeit ein Erdnusskuchen beanstandet worden war, weil sich bei pharmakognostischer Untersuchung darin sehr grosse Mengen von Rizinusbestandteilen nachweisen liessen. Der Lieferant produzierte daraufhin das bekannte, schon so oft abgegebene Gutachten von Prof. Schmidt in Hamburg, dahin lautend, dass zwar zugegeben werde, es seien Rizinusbestandteile vorhanden, aber es werde bestritten, dass diese schädlich wirkten. So kam es zur Klage. Ich sollte nun die Schädlichkeit oder Unschädlichkeit der Kuchen von meinem Standpunkte aus prüfen.

Zunächst stellte auch ich mikroskopisch reichlich Schalenbestandteile von Rizinus fest. Diese sind ja aber an sich nicht beweisend, da sie, wie wir wiederholt erwähnt haben, im kernfreien Zustand ungiftig sind. Immerhin rechtfertigten sie doch den Verdacht, dass auch Kernbestandteile von Rizinus anwesend sein möchten.

Nun wurden 60 g des fraglichen Mehles mit der fünffachen Menge physiol. Kochsalzlösung 24 Stunden lang nach Zusatz von 1 ccm Toluol bei 38° C. extrahiert, dann abgepresst, die Flüssigkeit neutralisiert und in zwei Teile geteilt. Der erste Teil wurde direkt verwendet, der andere erst nach einstündigem Erhitzen auf 70° C. Von beiden Portionen wurden Mengen von 1—5 ccm zu je 5 ccm 2% Taubenblutkochsalzgemisch gesetzt und dann alle Gläschen mit physiol. Kochsalzlösung auf 10 ccm aufgefüllt. Schon nach 3 Stunden waren sämtliche Gläschen, welche den bei 38° gewonnenen Auszug enthielten, agglutiniert und zwar in Form eines festen Kuchens. Von den auf 70° erhitzten Auszugsportionen waren nach 3 Stunden wenigstens die mit 5 und mit 4 ccm fest agglutiniert. Die andern erreichten

dieses Stadium erst später. Jetzt wurde der Versuch wiederholt, nachdem sowohl der auf 70° erhitzte, als der unerhitzte Auszug 10fach verdünnt worden waren. Auch jetzt trat in allen Gläschen, welche 2—5 ccm der Auszüge enthielten, völlige Agglutination des Taubenblutes ein, nur wurde das Ende des Prozesses erst nach 16 Stunden erreicht. Parallelversuche mit Meerschweinchenblut fielen sogar noch schlagender aus, da hier auch die beiden Proben mit je 1 ccm Auszug, entsprechend 20 mg Kuchenmehl, Agglutination lieferten.

Diese Versuche beweisen, dass in dem fraglichen Erdnusskuchen reichlich Pulver von nicht denaturierten Rizinussamen enthalten ist und nicht etwa nur Schalenbestandteile. Die Agglutination kann auch nicht auf Erdnussphasin geschoben werden, denn dieses reagiert mit Taubenblut überhaupt nicht; ferner hätte es durch das Erhitzen auf 70° unwirksam geworden sein müssen.

Um auch toxikologisch die Giftigkeit darzutun, machte ich noch folgenden Tierversuch.

Ich spritzte einem Kaninchen von etwas über 2000 g am 20. Mai um 3 Uhr 5 ccm des unverdünnten, auf 70° erhitzten Auszuges unter die Haut des Rückens. Am 21. Mai frass es nicht mehr und am 22. Mai vormittags 10 Uhr 45 Minuten starb es nach einigen leichten Krampfanfällen. Der Harn des 21. Mai enthielt bereits Eiweiss; der des 22. Mai auch reichlich Zylinder.

Die sofort nach dem Tode vorgenommene Sektion ergab sulziges Ödem und einzelne Hämorrhagien in der Umgebung der Einspritzstelle. Sonstige makroskopische Organveränderungen nicht nachweisbar. Mikroskopisch im Gefrierschnitt in den Harnkanälchen reichliche Zylinder wahrnehmbar.

Da Erdnusskuchenauszug, namentlich bei 70° gehaltener, gar keine Wirkungen hat, kann der Tod des Kaninchens nur auf beigemischte Rizinussamenbestandteile bezogen werden. Die Veränderungen an der Einspritzstelle und in den Nieren sprechen auch für Rizinus. Ein halbes Gramm des fraglichen Erdnusskuchens war hier die letale Dose pro Kilogramm Kaninchen; die Giftigkeit des Kuchens ist also beträchtlich gross.

Eigentlich genügen die vorstehenden Versuche, um den Einwand des Prof. Schmidt zu widerlegen. Um die Reinigung des Giftes, soweit dies überhaupt möglich ist, durchzuführen, wurde jedoch noch eine zweite Versuchsreihe angeschlossen, in der das Rizin von Erdnussbestandteilen auf biologischem Wege befreit und dann von neuem auf seine Wirksamkeit geprüft wurde.

5 ccm des zehnfach verdünnten, für 1 Stunde auf 70° erhitzten Auszuges des fraglichen Erdnussmehles, entsprechend 0.1 g Mehl, wurden abends mit 5 ccm 2%igem Kaninchenblut versetzt. Früh war feste totale Agglutination eingetreten. Nun wurde die über dem Agglutinat stehende klare Flüssigkeit abgehoben und mehrmals kleine Mengen physiol. Kochsalzlösung als Waschwasser vorsichtig aufgebracht, ohne den Agglutinatkuchen zu zerstören. Alsdann wird dieser in einer kleinen Reibschale mit 2 Tropfen verdünnter Salzsäure verrieben, wobei er braunschwarz wird. Eine halbe Stunde später wird mit Sodalösung neutralisiert. In dem Augenblick, wo die Neutralität erreicht wird, wird die bis dahin schmierige Masse fest und presst farblose Flüssigkeit aus. In diesem Zustand wird durch ein ganz kleines Filter filtriert und 20 Minuten lang mit physiol. Kochsalzlösung tropfenweis nachgewaschen, bis 5 ccm Filtrat gewonnen sind. Dieses ist ganz klar und nur spurweis gelblich gefärbt. Es enthält weder Erdnussbestandteile noch Hämoglobin, sondern nur Rizin und Kochsalz. Es wird von neuem abends mit 5 ccm 2%igem Kaninchenblut versetzt und führt über Nacht von neuem totale feste Agglutination herbei. Der Versuch wurde dann wiederholt, indem erst Taubenblut und nach der Wiedergewinnung Kaninchenblut verwendet wurde. Das Ergebnis war dasselbe.

Wenn man bedenkt, dass hier nur 0.1 g Erdnussmehl verwendet wurde, und dass demgemäss auch die darin als Verunreinigung steckende Rizinmenge naturgemäss nur sehr klein gewesen sein kann, kann man dieser Methode, das Gift zu isolieren und dann von neuem zur Agglutination zu verwenden, seine Anerkennung wohl nicht versagen.

Als Experimentum crucis blieb jetzt noch die Isolierung des Rizins zum Zweck der Identifizierung durch den Tierversuch.

Zu diesem Behufe wurden 25 ccm Erdnussmehlauszug, entsprechend 5 g Mehl mit 1 ccm unverdünntem defibriniertem Menschenblut versetzt. Nach 12 Stunden wird das feste Agglutinat gewaschen, mit ClH zersetzt, neutralisiert und filtriert unter tropfenweisem Zusatz von 0.9%iger Kochsalzlösung, bis 5 ccm Filtrat erhalten sind. Diese klare, leicht gelb gefärbte Flüssigkeit wird einem Kaninchen von 1280 g unter die Haut gespritzt. Es stirbt nach 30 Stunden unter Lähmungserscheinungen.

Die Sektion ergibt sulziges Ödem an der Injektionsstelle und einzelne Blutaustritte ins grosse Netz.

Somit war im Hohenheimer Prozess der Beweis geliefert, dass sich aus dem rizinnshaltigen Erdnusskuchen trotz Widerspruchs der Gegenpartei wirksames Gift rein abscheiden und sowohl durch die biologische Probe, d. h. durch Agglutination als durch die toxikologische als Rizin identifizieren liess.

VII. Über Krotin.

Aus der Literatur ist ersichtlich, dass vereinzelt eine Verunreinigung von Futterstoffen, namentlich von Erdnusskuchen, durch Krotonsamen vorgekommen ist, und dass diese Kuchen dadurch schwere Vergiftung veranlassten.

Da Kroton in landwirtschaftlichen Kreisen eine recht unbekannte Droge ist, so muss ich etwas weiter ausholen.

1. Historisches und Botanisches über Kroton.

Croton Tiglium gehört wie Ricinus communis zu den Euphorbiaceae. Es ist ein kleiner, im südlichen Ostindien, Malabar, Cochinchina, den Molukken und auf Amboina einheimischer, aber auch in Ostindien, auf Ceylon, in China, auf den Sundainseln, den Philippinen und in Mauritius kultivierter Strauch. Die Frucht ist eine elliptische Kapsel mit zerbrechlicher Schale. Die zu drei in der Frucht enthaltenen Samen werden als Grana Tiglii oder Semen Crotonis bezeichnet. Sie sind in bezug auf Grösse und Gestalt den Rizinussamen sehr ähnlich, sind aber weniger schön gezeichnet, sondern sehen schmutzig-grau oder hellbraun aus. Die Schalen betragen durchschnittlich 31.6 % und der Kern 68.4 % der Samen. Nur der Kern ist wie bei Rizinus der Träger der Giftwirkung. Die Blätter, die Wurzel und der Stamm des Baumes sollen ebenfalls giftig sein; ich kann für die Richtigkeit dieser Angaben aber nicht einstehen.

Die Geschichte der Verwendung der Krotonsamen als Arznei reicht in Indien nach B. W. Dymock mindestens ein Jahrtausend zurück. Alle Einzelheiten darüber habe ich durch meinen Schüler E. v. Hirschheydt[1]) zusammenstellen lassen. Wie die Kerne der Rizinussamen, so bestehen auch die der Krotonsamen zu mehr als der Hälfte aus fettem Öl.

2. Über das Krotonöl und seine Wirkungen.

Das Krotonöl scheint zuerst in Indien zu arzneilichen Zwecken dargestellt und angewandt worden zu sein. Es eroberte einen Platz in allen Pharmakopöen und ist daraus leider bis heute noch nicht wieder entfernt worden, obwohl es ungemein stark giftig wirkt und es als Arzneimittel völlig entbehrlich ist.

[1]) Über die Krotonolsäure R. Buchheims, Arb. d. pharmakol. Inst. zu Dorpat, herausgegeben von R. Kobert, Bd. 4, 1890, S. 5.

Zum Glück hat man es wenigstens für den inneren Gebrauch mit einer Maximaldose versehen, die bei uns einen einzigen Tropfen (0.05 g) beträgt. Es soll durch seine stark reizenden Eigenschaften abführend wirken. Äusserlich wird es als Hautreizmittel von Kurpfuschern leider noch immer recht oft verwendet und veranlasst dabei nicht selten schwere Hautentzündung. Die toxikologische Kasuistik über Kroton findet sich bei v. Hirschheydt[1]) zusammengestellt. Sie hat kürzlich dadurch erneutes Interesse bekommen, dass sich herausgestellt hat, in wie naher pharmakologischer Beziehung die Margarinevergiftungen durch die Bacca-Margarine zu den Krotonölvergiftungen stehen.

Die mit v. Hirschheydt angefangenen Versuche der Abscheidung des giftigen Prinzipes aus dem Krotonöl habe ich mit Siegel[2]) fortgesetzt. Danach bin ich geneigt, sowohl ein flüchtiges als ein festes giftiges Prinzip in diesem Öle als vorhanden zu bezeichnen. Die von der Firma E. Merck in den Handel gebrachte, nicht flüchtige, in die Reihe der ungesättigten Säuren gehörige Krotonolsäure, der nach Siegels nicht endgiltigen Analysen die Formel $C_{10}H_{18}O_3$ zuzukommen scheint, ist die eine Trägerin der lokal reizenden Wirkung. Die Einzelheiten ihrer Darstellung sind bei Siegel einzusehen. Das flüchtige giftige Prinzip des Krotonöles ist vielleicht ein Zersetzungsprodukt der Krotonolsäure. Dunstan und Boole[3]) isolierten aus dem Krotonöl ein Harz von Laktoncharakter, dem die Formel $C_{13}H_{18}O_4$ zukommt, und das sich als stark blasenziehend erwies. Es ist in Alkohol, Äther und in Chloroform leicht löslich. Das letzte Wort über alle diese reizenden Stoffe ist natürlich noch nicht gesprochen. Unter solchen Umständen muss uns hier die Frage interessieren, ob es etwa eine einfache biologische Methode gibt, mit Hilfe deren man Krotonöl in relativ kleinen Mengen nachweisen und namentlich vom Rizinusöl unterscheiden kann. Zu diesem Zwecke habe ich im Anschluss an die früher mit v. Hirschheydt gemachten Tierversuche soeben eine Reihe weiterer Versuche an Fröschen mit Leon Itzkowitsch[4]) angestellt. Der Sinn dieser Versuche ist folgender. Von den in Kraftfuttermehlen vorkommenden Fetten sind nur zwei in Alkohol gut

[1]) l. c. S. 41—48.
[2]) Über die Giftstoffe zweier Euphorbiaceen. Diss. Dorpat 1893.
[3]) Pharm. Journal and Transact. 1895, 6. Juli.
[4]) Über die Wirkung der Bestandteile der Krotonsamen. Diss. Rostock 1912.

löslich, das Rizinusöl und das Krotonöl. Ein alkoholischer Auszug solcher Mehle hat also im wesentlichen diese beiden zu berücksichtigen. Nun konnte ich feststellen, dass 5 %ige Rizinusölemulsionen, Fröschen in den Rückenlymphsack eingespritzt, keinerlei schwere anatomische Veränderungen hervorrufen, Krotonölemulsionen dagegen schon in kleinen Dosen ausnahmslos. Man kann daher dieses Öl, falls man es nicht durch den Kosteversuch identifizieren will — es schmeckt nämlich ausserordentlich stark brennend und kratzend — durch den Froschversuch von Rizinusöl und allen in Futtermitteln vorkommenden fetten Ölen leicht unterscheiden.

Zu den Versuchen dienten Temporarien (Feldfrösche) von 30—40 g. Das Krotonöl wurde aus wohl 30 Jahre alten Samen unserer Sammlung hergestellt. Es reagierte, wie Krotonöl aus alten Samen es immer tut, sauer. Es wurde mit Gummi arabicum und einer Spur kohlensaurem Natrium zu einer 5 %igen, sehr vollkommenen Emulsion angerieben und diese dann, wenn nötig, weiter verdünnt.

Von dieser Emulsion wirkten bei Einspritzung in den Rückenlymphsack Dosen, die 10—50 mg Öl entsprachen, ausnahmslos rasch tödlich, während die andern in Frage kommenden Öle der Kraftfutter diese Wirkung nicht haben. Aber auch noch Dosen von 1—9 mg wirkten in gleicher Weise letal. Die Erscheinungen, unter denen die Tiere dabei in 2—10 Stunden zugrunde gingen, waren Abschwächung der Atmung und der spontanen Bewegungen bis zum völligen Verlust, dann Abnahme der Reflexerregbarkeit, endlich Herzstillstand. Ausnahmslos fand sich im Magendarmkanal irgendwo, und zwar meist im Magen Blut; ebenso war die Muskulatur des Rückens und der Oberschenkel oft von einzelnen Blutaustritten durchsetzt. Auffallend war, dass der Magen, auch wenn er prall voll Blut war, nach dem vorsichtigen Abwischen nirgends Veränderungen der Wandungen zeigte, selbst nicht einmal bei mikroskopischer Untersuchung. Wir werden nachher erfahren, wie sich dies erklärt.

Bei noch kleineren Dosen, von 0.9 mg bis zu 0.1 mg Krotonöl hinunter, trat ebenfalls schwere Vergiftung der Tiere ein, nur erfolgte der Tod erst nach 36—48 Stunden und die anatomischen Veränderungen waren oft viel geringer.

Immerhin zeigen diese Versuche, dass man noch Dosen von einem Milligramm Krotonöl, ja noch wesentlich weniger durch den Froschversuch nachweisen kann.

Wurde statt in den Rückenlymphsack unter die Haut des einen Oberschenkels gespritzt, so waren die Veränderungen natürlich in der Muskulatur dieses Schenkels am stärksten; aber der blutige Inhalt des Magendarmkanales fehlte auch hier nicht.

Wurde dagegen das Gift durch die Speiseröhre in den Magen eingeführt, so waren viel grössere Dosen nötig, als subkutan, um die Tiere zu töten.

Bei einer Versuchsreihe, die das Intaktbleiben der Magenwandung erklären sollte, liess sich nun nachweisen, dass nach subkutaner Einspritzung die Ausscheidung des Blutes in den Magendarmkanal nur an einer einzigen Stelle erfolgt und zwar durch die Mundschleimhaut. Wurde nämlich um die Speiseröhre vor der Einspritzung eine Ligatur gelegt, so wurde nach dem Tode der ganze unterhalb der Ligatur liegende Teil des Magendarmkanales absolut blutfrei gefunden; aber dicht über der Ligatur fand sich reichlich Blut und Schleim und füllte auch die Mundhöhle, aus deren Schleimhaut es nachweislich stammte. So wird es verständlich, dass der Magen sich selbst bei mikroskopischer Untersuchung völlig normal erwiesen hatte. Die Ausscheidung eines subkutan eingespritzten Stoffes nur durch die Mundschleimhaut des Frosches ist recht auffallend, steht aber nicht ganz beispiellos da. Ich habe schon vor 20 Jahren durch Alex. Samojloff[1]) den Nachweis führen lassen, dass glyzyrrhizinsaures Silber nach subkutaner Einspritzung durch den Mund ausgeschieden und schliesslich durch die Kloake als schwarzer silberhaltiger Klumpen ausgestossen wird. Auch in diesem Falle führten erst Unterbindungen zur richtigen Erkenntnis. Wurde oberhalb der Kloake unterbunden, so fand sich der schwarze silberhaltige Klumpen im unteren Dünndarm. Wurde unterhalb des Magens unterbunden, so fand sich das Silber im Magen. Wurde endlich die Speiseröhre unterbunden, so fand sich die dunkle Masse im Munde.

[1]) Ein Beitrag zur Pharmakologie des Silbers. Arbeiten des pharmakol. Inst. zu Dorpat, herausgegeben von R. Kobert, Bd. 9 (Stuttgart 1893), S. 27.

Für unsere Zwecke hier ziehe ich aus dem Vorstehenden, wie schon vorhin gesagt wurde, den Schluss, dass es möglich ist, selbst milligrammatische und noch kleinere Dosen von Krotonöl, wie sie in Krotonpresskuchen stets sich noch finden, durch den Froschversuch leicht und sicher nachgewiesen werden können. Zum Nachweis verwendbar ist nicht nur der Umstand, dass schon Bruchteile eines Milligrammes des mit Alkohol aus den Kuchen ausgezogenen Öles sicher die Frösche töten, sondern auch der Umstand, dass schon sehr kleine Dosen so charakteristischen Blutaustritt durch den Mundboden in den Darmkanal veranlassen, wie kein anderes hier in Betracht kommendes Gift es tut.

3. Über die Wirkungen und den Nachweis des Krotins.

In den mit Alkoholäther vollständig erschöpften Presskuchen der Kerne der Krotonsamen findet sich eine dem Rizin analoge, aber damit nicht identische Albuminsubstanz, die ich durch Elfstrand[1]) eingehend habe untersuchen und mit dem Namen Krotin habe belegen lassen. Die uns hier fast ausschliesslich interessierenden Wirkungen auf verschiedene Blutarten habe ich soeben mit Leon Itzkowitsch[2]) nochmals nachgeprüft. Die letale Dose von Krotin pro Kilo warmblütiges Tier ist viel grösser als die vom Rizin. Schon daraus geht hervor, dass beide Stoffe nicht identisch sind. Noch viel deutlicher aber ergibt sich diese Verschiedenheit daraus, dass die Wirkungen des Rizins und Krotins auf mehrere Blutarten prinzipiell voneinander abweichen. Während z. B. die Blutkörperchen des Meerschweinchen von Rizin noch bei enormer Verdünnung total agglutiniert werden, hat Krotin auf das Blut dieser Tierart gar keine Einwirkung. Auch das von Mensch und Pferd wird im Gegensatz zum Rizin von Krotin gar nicht beeinflusst. Die Blutkörperchen von Kaninchen, Igel, Schlange und Huhn werden von Krotin statt agglutiniert in Wahrheit hämolysiert. Katzenblutkörperchen werden entweder gar nicht beeinflusst oder ebenfalls — aber schwach — hämolysiert. Nur die Blutkörperchen von Schwein, Rind, Hammel, Seehasen und Frosch werden energisch agglutiniert.

---

[1]) Über blutkörperchenagglutinierende Eiweisse. Görbersdorfer Veröffentlichungen, herausgegeben von R. Kobert, Bd. 1 (Stuttgart 1898), S. 1.

[2]) Über die Bestandteile der Krotonsamen. Diss. Rostock 1912, S. 49.

Wenn in einem Futtermittel Rizin und Krotin nebeneinander vorhanden sind, so ist es sehr leicht, letzteres auszuschalten, da es schon nach kurzem Erhitzen auf 70° C. unwirksam wird, während Rizin, wie wir gesehen haben, eine ganze Stunde lang bei 70° gehalten werden kann, ohne seine Blutwirkung zu verlieren.

Sämtliches im Handel befindliche Krotin ist nach meiner Vorschrift dargestellt. Das von der Firma E. Merck vor 20 Jahren mir gelieferte ist noch jetzt wirksam, nur hat die Löslichkeit in Wasser natürlich inzwischen abgenommen. Durch Einspritzen steigender Dosen erhält man ein sehr wirksames Antikrotin, das mit Antirizin nicht identisch ist. Ein krotinhaltiger Futterauszug gibt natürlich nur mit Krotinserum und nicht etwa mit Rizinserum einen Niederschlag.

Die Hauptmenge der Krotonsamen, welche in Deutschland zur Verarbeitung auf Krotonöl gelangen, werden dieser gefährlichen Prozedur in Rostock in der Fabrik der Firma Dr. Friedrich Witte unterworfen. Hier handelt es sich dann immer gleich um viele Tonnen. Diese Firma presst übrigens das Öl nicht, sondern sie extrahiert es mit Hilfe eines Lösungsmittels. Das Ganze geht mit so grossem Geschick vor sich, dass dabei keinerlei üble Zufälle vorkommen. Die zuletzt auch noch mit Dampf überströmten Rückstände gelangen nicht in den Handel, sondern werden sofort vernichtet. Eine Gefahr der Verunreinigung von Futtermitteln durch diese Rückstände besteht also hier in Rostock zur Zeit gar nicht.

VIII. Über Abrin.

Auch bei diesem Stoff muss ich, da er in der Landwirtschaftlichen Praxis wohl kaum bisher Erwähnung gefunden hat, einiges zum Verständnis vorausschicken.

1. Historisches über die Paternostererbse.

Abrus precatorius (Papilionac.) stammt aus Ostindien, ist jetzt aber über alle Tropenländer verbreitet. In Brasilien, wo man seit alter Zeit wie in Ostindien diese Pflanze arzneilich benutzt, führt sie den Namen Jequirity. Die glyzyrrhizinhaltige Wurzel wird in Ostindien statt Süssholz verwendet. Auch die Blätter dienen arzneilichen Zwecken. Hier interessieren uns nur die schönen rundlichen roten Samen mit schwarzem Fleck, die

den Augen eines Hahnes sehr ähnlich sehen und daher von mohamedanischen Autoren unter dem Namen Augen des Hahnes erwähnt werden. In Persien dienen sie noch heute wie vor vielen hundert Jahren innerlich als Aphrodisiacum und äusserlich in Pulverform als Mittel gegen Trachom des Auges. Von Brasilien aus, wo diese Anwendung allgemein üblich ist, wurde das Mittel als Semen Jequirity 1882 dem berühmten Pariser Augenarzt DE WECKER auf Veranlassung eines brasilianischen Patienten zu eigener Verwendung übersandt, der sofort feststellte, dass ein wässriger Auszug der Samen noch bei ungeheurer Verdünnung heftige Konjunktivitis des Auges der Menschen und Tiere hervorruft. Betreffs der uns hier nicht interessierenden Einzelheiten der augenärztlichen Literatur über unser Mittel verweise ich auf die gut orientierende Zusammenstellnng von KARL HOOR.[1])

1884 widerlegten C. J. H. WARDEN und L. A. WADDELL[2]) unter Beihilfe von ROBERT KOCH die in Deutschland aufgekommene irrige Meinung, das die Augenentzündung Bedingende sei eine in den Samen wuchernde Bakterie. Sie zeigten, dass das Wirksame eine Eiweisssubstanz der Samen ist, und sie nannten diese Abrin. Sie stellten das Abrin aus dem mit Chloroform und Weingeist von Fett, Lipoiden und Farbstoffen befreiten Samenpulper durch Extraktion mit Wasser dar und schlugen die wässrige Lösung mit Alkohol nieder. S. H. C. MARTIN[3]) und N. WOLFENDEN[4]) zerlegten das Abrin in ein Globulin und eine Albumose und bewiesen, dass beide giftig sind und beide durch momentanes Erhitzen auf 75—85 ° C. denaturiert werden und zwar das Globulin schon beim Erhitzen auf 75—80 °, die Albumose erst beim Erhitzen auf 80—85 °. Über die Wirkung dieser Stoffe aufs Blut findet sich in den Publikationen aller bis hierher genannten Autoren kein einziges Wort. WALTHER HAUSMANN[5]) vermochte durch eine kombinierte Trypsinaussalzungsmethode ein

[1]) Das Jequirity, das Jequiritol und das Jequiritolserum. Samml. zwangloser Abhandlungen aus dem Gebiete der Augenheilkunde, herausgegeben von VOSSIUS, Bd. 5, Heft 3—4, Halle a. S., 1903.

[2]) The non-bacillar nature of Abrus poison with observations on its chemical and physiological properties. Calcutta 1884.

[3]) Proceed. Royal Soc. 42, 1887, p. 331; Brit. med. Journ. 1889. 2, p. 184; Proceed. Royal Soc. 46, 1889, p. 100.

[4]) MARTIN und WOLFENDEN, Proceed. Royal Soc. 46, 1889, p. 94.

[5]) HOFMEISTERS Beiträge Bd. 2, 1902, S. 134.

Abrin herzustellen, welches keine Biuretreaktion mehr gab. Er glaubt daraus schliessen zu können, dass das Abrin kein Eiweissstoff ist. Ich halte seinen Beweis nicht für zwingend.

Die mit steigenden Dosen von Abrus gefütterten oder mit steigenden Dosen von Abrin subkutan behandelten Tiere werden nach Ehrlich[1]) immun gegen Abrin, aber nicht gegen Rizin. L. Lewin[2]) freilich hat soeben erklärt, dass es gegen Abrin keine Immunisierung gebe. Den Gegenbeweis gegen Ehrlich bleibt er bis jetzt schuldig. Mit Abrin subkutan schwer vergiftete Kaninchen zeigen, wie zuerst Werhowsky[3]) genauer untersucht hat, schon nach Dosen von 3 mg des Merckschen Präparates pro Kilo Körpergewicht Schläfrigkeit, verlieren den Appetit und bekommen Durchfälle, die bald flüssig werden und Blut enthalten. Die Körpertemperatur sinkt. Der Tod erfolgt unter Prostration. Die Sektion ergibt in der Bauchhöhle blutig-seröse Flüssigkeit; eine ebensolche findet sich auch im Perikardium. Der Darminhalt enthält allenthalben etwas Blut. Die Schleimhaut des Magens und vieler Darmstellen zeigt auf geröteter Basis weissgraue Ablagerungen. Milz, Leber und Nieren sind blutreich. Auf der Aussenfläche des Herzens können sich Blutaustritte finden; die Herzhöhlen sind blutgefüllt. Mikroskopisch zeigen sich die Portalgefässe der Leber und die Zentralvenen stark erweitert und voll von z. T. stark veränderten Blutkörperchen. In der Umgebung der Pfortaderverzweigungen stellenweis Blutaustritte. Das Endothel der Leberkapillaren stark fettig degeneriert. In der Schleimhaut des Magens und des Darmkanales viele Epithelien nekrotisch, z. T. eingepackt in ein strukturloses Exsudat. Auch in den Nieren können degenerative Veränderungen auftreten, falls die Vergiftung sich nicht zu schnell abspielt. Für fleischfressende Tiere (Hunde, Katzen) hat Schmorl[4]) die Angaben seines Vorgängers ergänzt. Er fand, dass bei den Fleischfressern die unten noch zu besprechenden Alterationen des

[1]) Deutsche med. Wochenschr. 1891, No. 32.

[2]) Eulenburgs Realenzyklopädie der ges. Heilkunde Bd. 12 (Wien 1912), S. 521.

[3]) Beitrag zur pathol. Anat. der Abrinvergiftung. Zieglers Beiträge zur pathol. Anat. Bd. 18, 1896, S. 115.

[4]) Über Abrinvergiftung. Jahresber. der Gesellsch. für Natur- u. Heilkunde zu Dresden, Jahrg. 1899—1900, Sonderdruck.

Blutes und des Blutgefässsystems viel stärker sind als bei Pflanzenfressern. Bei Pflanzen- und bei Fleischfressern zeigt das Mikroskop schwere Veränderungen der Herzmuskulatur, nämlich sogen. hydropische Degeneration, wobei jede Muskelfaser auf das Doppelte anschwillt und ein auffallend helles Ansehen bekommt. Stellenweis zeigt sich auch Verfettung der Fasern. Nach Schmorl greift das Abrin die Herzmuskelfasern direkt und primär an und führt zum Tode durch Herzlähmung. Schmorl beschreibt einen Fall, einen Lehrer betreffend, der durch Genuss eines Bruchteiles eines Abrussamenkerns im Gewicht von wenigen Zentigrammen furchtbaren Brechdurchfall und Kollaps bekam. Alles in allem sind die Erscheinungen in vita und die Veränderungen post mortem beim Abrin denen nach Rizin und nach Krotin prinzipiell verwandt, aber doch deutlich davon unterscheidbar.

2. Über die Blutwirkungen und den Nachweis des Abrins.

Noch in demselben Jahre, in welchem die Arbeit von S. Martin und Wolfenden erschienen war, fand ich,[1]) dass das Abrin biologisch in dieselbe Gruppe von Stoffen gehört, wie das Rizin, und dass es namentlich ebenfalls starke agglutinierende Wirkungen für rote Blutkörperchen besitzt. Durch Heinrich Hellin[2]) liess ich darüber ausführliche Versuche anstellen. Wir fanden, dass die Samen 5 % Ausbeute an reinem Abrin liefern. Wir liessen nach unseren Angaben bei E. Merck ein Präparat darstellen, das noch heute wirksam ist. Es enthält 12% Asche; das von uns selbst dargestellte enthielt nur 5%.

Wir haben S. 6 erfahren, dass für das Rizin von einigen Autoren angenommen wird, es sei ein Gemisch eines Toxins und eines Agglutinins; ersteres bedinge die Wirkungen im lebenden Organismus, und letzteres spiele nur im Reagenzglasversuch mit verdünntem Blute eine Rolle. Natürlich liegt es nahe, diesen Satz auch auf das Abrin anzuwenden. Hier liegen die Verhältnisse jedoch insofern für mich günstiger, als anatomische Ver-

[1]) Sitzungs-Bericht der Dorpater Naturforscher-Gesellschaft Jahrg. 1889, S. 114. St. Petersb.; Deutsche med. Wochenschr. Jahrg. 1889, No. 40, S. 351.

[2]) Der giftige Eiweisskörper Abrin und seine Wirkungen auf das Blut. Diss. Dorpat 1891.

änderungen der roten Blutkörperchen bei mikroskopischer Untersuchung der Organe, namentlich der Leber und der Darmschleimhaut, nicht nur von mir und Hellin, sondern auch von Werhowsky und von Schmorl wahrgenommen worden sind. Schon mit Hellin hatte ich in den Gefässen der Darmschleimhaut Thrombenbildung, die mit der agglutinierenden Wirkung des hier ausgeschiedenen und daher relativ konzentrierten Giftes im Zusammenhang zu stehen schienen, wahrgenommen. Schmorl fand bei Fleischfressern noch mehr als bei Kaninchen in den Gefässen des Darmkanals Thromben, die aus pathologisch veränderten roten Blutkörperchen herrührten und die zu ausgedehnten Nekrosen der Epithelien und Geschwürbildung geführt hatten. Ganz analoge Thromben fand er namentlich in den Kapillaren der Leber, wo sie nekrotische Herde veranlasst hatten. Diese Kapillarthromben hatten besonders in den kleinsten interlobulären Pfortaderästen ihren Sitz. Die dadurch bedingten nekrotischen Herde glichen den bei Eklampsie in der Leber auftretenden frappant. Alles dieses spricht dafür, dass das Abrin in der Leber und in der Darmschleimhaut agglutinierend wirkt. Dies wird leicht verständlich, wenn man das Abrin als einheitliche Substanz auffasst, ihm aber toxische und agglutinierende Eigenschaften beilegt.

Erst jetzt können wir zur Frage des Nachweises von Abrin in Futtermitteln übergehen. Hier ist voraus zu bemerken, dass eine derartige Verunreinigung in Europa wohl noch nicht beobachtet worden ist, während in Indien früher aus Hass gegen die Engländer Futtervergiftungen der Haustiere auch durch dieses Gift häufig vorgekommen sein sollen. Man wird bei dem Nachweis gerade so verfahren, wie ich es für den von Rizinus angegeben habe. Mindestens der eine Teil des Abrins, und zwar die Albumose, geht dabei in den Auszug über und kann mit Alkohol daraus niedergeschlagen werden. Eine Spur der dabei erhaltenen Substanz, nach dem Trocknen und Zerreiben einem Kaninchen oder einer Katze ins Auge geblasen, veranlasst die heftigste Entzündung der Augenbindehaut. Die durch die gleiche Menge eines ebenso gewonnenen Rizinuspräparates aus Futterkuchen am Auge hervorgerufene Alteration ist unvergleichlich viel schwächer. Wo die Augenwirkung fehlt, liegt kein Abrin vor. Alsdann löst man das fragliche Abrin in physiol. Kochsalzlösung und macht Blutversuche.

Tabelle IV.

Übersicht über die Stärke der agglutinierenden Wirkung des Abrusauszugs auf verschiedene 1—2 %ige Blutarten.

Nummer	Blutart:	Berechnet auf Samenkerne beträgt sie 1:	Berechnet auf reines Abrin beträgt sie 1:
1	Hund	800 000	16 000 000
2	Pferd	200 000	4 000 000
3	Katze	50 000	1 000 000
4	Kaninchen	50 000	1 000 000
5	Igel	50 000	1 000 000
6	Mensch	10 000	200 000
7	Schwein	10 000	200 000
8	Rind	10 000	200 000
9	Kalb	10 000	200 000
10	Meerschweinchen	10 000	200 000
11	Hammel	10 000	200 000
12	Taube	10 000	200 000
13	Huhn	10 000	200 000

Wie ein Vergleich dieser Tabelle mit der auf S. 28 zeigt, sind die Wirkungen des Abrins und Rizins auf Blut nicht identisch; die Reihenfolge der Blutarten ist in beiden Tabellen ganz verschieden. Natürlich fallen die Versuche mit Abrin nicht immer ganz gleichartig aus; so reagierten in einzelnen Versuchen das Blut des Pferdes und der Katze viel schwächer und das des Kaninchens umgekehrt stärker, als ich angegeben habe. Beim Blut der Ziege, der Ratte, des Seehasen und der Ringelnatter war die agglutinierende Wirkung des Abrins überaus gering, ja fast Null. Bei Igelblut wirkten grössere Dosen hämolytisch; auch bei dem der Taube und des Huhnes war dies, wenn auch in geringerem Grade, der Fall.

Ein weiterer Unterschied des Rizins und Abrins besteht in dem Verhalten gegen Oxydasen. Während Zusatz einiger Kubikzentimeter von 3%igem Wasserstoffsuperoxyd zu kleinen Mengen von Rizinlösungen deren Wirksamkeit nicht abschwächt, wird Abrin dadurch geschädigt. Frau N. Sieber,[1]) die namentlich die Einwirkung von Calciumsuperoxyd auf Abrin eingehend studiert hat, fand, dass unser Gift dadurch bei

[1]) Über die Entgiftung der Toxine durch Superoxyde sowie durch tierische und pflanzliche Oxydasen. Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 32, 1901, S. 573.

38° rasch wirkungslos wird. Tierische und pflanzliche Oxydasen wirken dagegen auf Abrin nicht entgiftend, wohl aber auf die Toxine der Diphtherie und des Tetanus.

Von uns vorgenommene Verdauung des Abrussamenauszuges durch Pepsin, Trypsin und Papain, deren Wirksamkeit vorher geprüft war, im Brutschrank 24 Stunden lang fortgesetzt, schwächten die agglutinierende Wirkung nicht ab. Hausmann musste die Pepsinsalzsäure sieben Wochen lang einwirken lassen, um das Abrin zu entgiften. Rizin dagegen soll nach Fr. Müller[1]) durch Pepsinsalzsäure sein Agglutinationsvermögen rasch verlieren.

Wie ich oben angeführt habe, soll durch Erhitzen die agglutinierende Wirkung des Abrussamenauszuges erst bei 85° C. verloren gehen. Nach meinen eigenen recht zahlreichen Versuchen besteht dieser Satz aber nur zu recht, falls man ganz kurzdauernd erhitzt. Wenn ich die Auszüge langsam bis auf 70° erhitzte und dann eine Stunde lang die Temperatur zwischen 70° und 75° hielt, ging in allen Fällen die agglutinierende Wirkung für die meisten (14) Blutarten, die zur Verfügung standen, vollkommen verloren. Für Hunde-, Katzen-, Kaninchen-, Menschen- und Rinderblut trat statt dessen bei grösseren Dosen eine hämolysierende Wirkung auf. Spurweise agglutiniert wurde nebenbei nur das Blut des Kaninchens.

Eine Unterscheidung des Abrins vom Rizin in Futterkuchenauszügen ist also, ganz abgesehen von der oben besprochenen Wirkung auf das Auge, auch durch den Blutversuch möglich, indem das Rizin seine agglutinierende Wirkung auch bei 75° für die empfindlichsten Blutarten, wenngleich etwas weniger intensiv als bei 70° behält, während das Abrin sie für die meisten Blutarten ganz verliert.

Zum Schluss ist noch zu erwähnen, dass alle Wirkungen des Abrins auf Tiere verloren gehen, wenn vorher Antiabrinserum, welches nach Analogie des Antirizins gewonnen ist, eingespritzt worden ist. Falls Rizin mit eingespritzt wird, wird dagegen durch Antiabrin die Rizinwirkung nicht aufgehoben. Auch dies kann zur Unterscheidung von Abrin und Rizin in Futtermittelauszügen natürlich jederzeit mit verwendet werden, da Antiabrinserum bei E. Merck käuflich ist.

---

[1]) Arch. exp. Path. u. Pharm. Bd. 42, 1899, S. 302.

IX. Über Robin und Robiniensamenphasin.

1. Über die Robinienrinde und ihren eiweissartigen Bestandteil.

Mit dem Namen Robin habe ich seinerzeit durch Carl Lau[1]) eine aus der Rinde der Robinia Pseudacacia 1890 von Power und Cambier[2]) dargestellte Eiweisssubstanz bezeichnen lassen, die mit Abrin, Rizin und Krotin grosse Ähnlichkeit besitzt. Ich hatte das Originalpräparat der Entdecker schon 1892 erhalten und bereits damals mich mit seinen Wirkungen auf Blut beschäftigt, aber ausser in meinem Lehrbuche der Intoxikationen[3]) nichts darüber publiziert. Power erklärt die Substanz für ein Nukleoproteid von saurer Reaktion, in Wasser und in Salzlösungen löslich, fällbar durch Alkohol, durch Säuren und durch Aussalzen. Beim Erhitzen wird der grössere Teil zwischen 70 und 80° C. unlöslich. Kochen hebt die Wirkungen völlig auf. Das Robin gibt die Farbreaktionen der Eiweisskörper und ist durch alle Eiweissreagentien nachweisbar. Die 3.74—4.12% betragende Asche enthält beträchtliche Mengen von Eisen. Die Ausbeute betrug bei Powers Versuchen 1.14—1.66% der Rinde. Power fand, dass das Robin sowohl Amygdalin als Sinigrin unter Entwicklung von Blausäure und Bittermandelöl bzw. von Allylsenföl rasch zerlegt. Milch wurde wie von Labferment koaguliert. Power tritt daher durchaus für die Fermentnatur seiner Substanz ein. Dass das Robin im Organismus ein Antirobin erzeugt, bewies P. Ehrlich[4]). Er fand eine sehr bemerkenswerte Ähnlichkeit zwischen Antirizin und Antirobin, ja er erklärte geradezu das Robin für ein in der Natur fertig gebildetes Toxoid des Rizins. Das Robin darf nicht mit dem Robinin verwechselt werden. Dies ist ein Rhamnose lieferndes Glykosid der Akazienblüten, welches einerseits von

---

[1]) Über vegetabilische Blutagglutinine. Diss. Rostock 1906.

[2]) On the chemical constituents and poisonous principal of the Bark of Robinia Pseudacacia. Read before the Wisconsin Academy of Sciences, Arts and Letters Dec. 27, 1889. Pharmaz. Rundschau 1890, S. 29. — Pharmaceutical Journal 1890, p. 711. — The Chemistry of the Bark of Robinia Pseudacacia by Fred. B. Power. Pharmac. Journal Aug. 17 and 24, 1901.

[3]) Erste Auflage Stuttgart 1893, S. 348.

[4]) Die Wertbemessung des Diphtherieheilserums und deren theoretische Grundlagen. Klinisches Jahrbuch Bd. 6, 1898, p. 315.

A. G. Perkin, andererseits von E. Schmidt[1]) untersucht worden ist. Über seine Wirkung ist mir nichts bekannt. In der Rinde kommt es nicht vor. Wohl aber fand Power in der Rinde eine andere glykosidische Substanz, die er für Syringin oder Glykosyringinsäure anspricht. Das gewöhnliche Syringin der Syringa ist nicht giftig. Ein von Power in der Robinienrinde gefundenes Harz ist, wie er fand, ebenfalls ungiftig. Endlich fand der Genannte eine oder mehrere alkaloidartige Substanzen zersetzlicher Art, über deren Wirkung wir nichts wissen, die aber wohl giftig sein könnten.

Jedenfalls steht fest, dass die Robinienrinde sowohl auf Menschen als auf Haustiere vereinzelt giftig gewirkt hat. Wie L. Lewin[2]) berichtet, erkrankten drei Rinder eine Stunde nach dem Kauen von Robinienrinde an Schlafsucht, Stupor, Pupillenerweiterung und Krampfbewegungen. Das eine Rind wurde totenblass, hatte keinen Pulsschlag, livide Lippen, eingesunkene Augen und lag ziemlich reaktionslos da. Erst durch Stimulantien wurde Besserung geschafft. Bei einer von Emery[3]) beschriebenen Massenvergiftung von 32 Knaben, die die innere Rinde der Robinie assen, traten ähnliche Erscheinungen auf; zum Teil erinnerten diese an Cytisinvergiftung. Vereinzelte Notizen über Locust-tree-poisoning von Menschen sind mir aus der amerikanischen Literatur bekannt. Coltmann[4]) sah nach Genuss der abgekochten Blätter Fieber, Zungenschwellung, Hautödem eintreten. Von Haustiervergiftungen sind namentlich solche von Pferden zu nennen. Wolberg[5]) berichtet, dass sieben Pferde nach Genuss der Robinienrinde erkrankten und drei starben. Zapel[6]) sah ebenfalls mehrere Pferde danach schwer erkranken. Die Darmperistaltik hörte auf, der Blick wurde stier, die Puls- und Atemfrequenz sehr erhöht. Im Hinterkörper trat Schwäche, ja vollkommene Lähmung ein. Die Sektion ergab wässrigen Darminhalt, Rötung der Darmschleimhaut und Lungenödem. Aus Frankreich wurde 1893 der Tod von sechs Militärpferden und drei Kühen nach Genuss unserer Rinde gemeldet.

[1]) Über das Robinin und das Robin. Apotheker-Ztg. 1901, No. 41, S. 357.
[2]) Lehrbuch der Toxikologie, II. Aufl. (Wien 1897), S. 283.
[3]) American Journ. of Pharm. 1887.
[4]) Med. and surg. Reporter 61, 1889, p. 236.
[5]) Apotheker-Ztg. Jahrg. 1890, No. 96, S. 735.
[6]) Zeitschr. f. Veterinärkunde 1891, S. 456 und 1894, S. 42.

Cornevin[1]) konnte jedoch bei Tierversuchen mit Pferden, Rindern, Schafen und Ziegen in Blättern, Zweigen, Blüten, Hülsen und Samen der Robinie kein Gift entdecken. Ich habe darauf hin meine eigenen Versuche wiederholt und muss die mit Lau gemachten Angaben über die giftigen Wirkungen des Robins als auf der Unreinheit oder schlechten Löslichkeit oder den übermässig grossen Dosen des damals benutzten Präparates beruhend jetzt zurückziehen. Ich habe mit grosser Sorgfalt genau nach derselben Methode, wie ich alle bisher besprochenen Agglutinantien dargestellt habe, ganz frische sowohl grüne als graue Robinienrinde verarbeitet und dabei ein Präparat erhalten, welches, wie die untenstehende Tabelle zeigt, energisch auf einige Blutarten wirkt, aber in Mengen von 1—10 ccm der 0.4 %igen Lösung subkutan eingespritzt für Kaninchen ungiftig ist. Ich kann daher die nach Genuss schon kleiner Mengen von Robinienrinde bei Menschen und Tieren eingetretenen Vergiftungserscheinungen nicht auf das Robin beziehen, sondern vermute, dass das Alkaloid oder Glykosid der Rinde das Giftige ist. Weiteres über Robin wird Herr Wakulenko publizieren. In der ausserordentlich stark giftigen Robinia Nicou scheint ja ebenfalls ein Alkaloid oder Glykosid die Wirkungen zu bedingen. Da das Robin der Rinde also von mir nicht mehr als in kleinen Dosen giftig angesprochen werden kann, muss ich es in die Gruppe der Phasine, d. h. der ungiftigen Agglutinantien (vergl. S. 56) einreihen. Die Angaben der nachstehenden Tabelle beziehen sich auf asche- und wasserfrei gerechnetes Robin der Rinde. Die Ausbeute betrug 0.7 % der lufttrockenen Rinde, der Aschegehalt des Präparates 11.78 %.

(Siehe die Tabelle auf S. 83.)

Wie die Tabelle zeigt, wirkt das reine Robin der Rinde auf einzelne Blut- bezw. Blutkörperchenarten noch bei sehr grosser Verdünnung total agglutinierend. Auch Krähenblut, für das ich keine genaueren Zahlen besitze, wird stark agglutiniert. Lau fand das Krähenblut ganz besonders empfindlich. Das Blut des Hundes wurde bei Laus Versuchen nicht agglutiniert; ich habe ergänzend nachgewiesen, dass auch die fast serumfreien Hundeblutkörperchen sich zu Agglutinations-

[1]) Journal de Lyon 1893. Mir im Original nicht zugängig.

versuchen durch Rindenrobin nicht eignen. Lau bekam auch bei dem Blute der Katze fast negative Resultate; ich bekam bei Anwesenheit des Serums auch nur schwache Wirkung, aber ich vermochte nach Entfernung des Serums den Ausfall der Versuche stark positiv zu machen. Beim Blut erwachsener Rinder bekam ich gar keine Agglutination. Eine hämolytische Wirkung, wie wir sie bei Krotin für einzelne Blutarten haben auftreten sehen, konnte weder Lau noch ich konstatieren.

Tabelle V.

Übersicht über die Stärke der agglutinierenden Wirkung des Rindenrobins.

Nummer	Blutart:	Stärke der Wirkung
1	Menschenblutkörperchen	1 : 1 807 000
2	Schweineblut	1 : 1 807 000
3	Hammelblut	1 : 1 807 000
4	Katzenblutkörperchen	1 : 430 000
5	Ziegenblut	1 : 181 013
6	Meerschweinchen	1 : 105 263
7	Menschenblut (vergl. No. 1)	1 : 90 420
8	Kaninchenblut	1 : 90 420
9	Hühnerblut	1 : 90 430
10	Froschblut	1 : 10 526
11	Krötenblut	1 : 9 043
12	Kalbsblut	1 : 2 106
13	Katzenblut (vergl. No. 4)	1 : 1 052
14	Schildkrötenblut	1 : 500

Für die Unterscheidung des Robins der Rinde vom Rizin würde sich die von Power gefundene Eigenschaft, Sinigrin zu zerlegen, vortrefflich eignen, da diese keinem einzigen pflanzlichen Agglutinin sonst zukommt. Eingehende Versuche zeigten jedoch, dass Powers Angaben für das von mir selbst dargestellte trocken aufbewahrte Rindenrobin nicht mehr gelten; es zerlegte Sinigrin auch bei zweitägiger Einwirkung im Brüteschrank nicht. Auch sonstige glykosidspaltende Eigenschaften besitzt es nicht. Es wirkt auch auf Milch nicht koagulierend.

Nach Ehrlich war zu vermuten, dass das Robin mit Rizinserum einen Niederschlag geben würde, da es ja selbst ein Antirizin im Organismus entstehen lässt. Mein eigenes Robin gab jedoch mit frisch bezogenem Rizinserum von Merck, dessen

hohe Wirksamkeit ich vorher festgestellt hatte, keine Spur von Niederschlag. Man kann daher neben Robin das Rizin in Futterkuchenauszügen mittels Rizinserum sehr wohl nachweisen. Falls man dieses nicht zur Hand hat, lässt sich mit Hundeblut, auf das Robin gar nicht einwirkt, Rizin aber wohl, eine Entscheidung herbeiführen. Beim Erhitzen auf 70° wird das Robin nicht unwirksam; man kann diese sonst so bequeme Methode zur Unterscheidung von Rizin also nicht anwenden.

2. Über den auf Blut wirksamen Bestandteil der Robiniensamen.

Nachdem sich das Robin der Robinienrinde als Phasin entpuppt hatte, lag es natürlich nahe, es in demjenigen Teile der Pflanze zu suchen, wo ich Phasine schon bei so vielen Papilionaceen entdeckt hatte, nämlich in den Samen. Zufälligerweise ist es hier schon von anderer Seite gesucht worden. Der von mir schon mehrfach erwähnte amerikanische Forscher Lafayette B. Mendel[1]) führt unter den von ihm mit Erfolg auf Phasine untersuchten Samen auch die des yellow locust, Robinia Pseudacacia, an. Er fand das darin enthaltene Phasin wirksam auf Kaninchen-, Schweine- und Hammelblut. Es ist mir sehr angenehm, diese Angaben durchaus bestätigen zu können. Da Mendel über die Stärke der Wirksamkeit keine Angaben macht, so will ich solche hier bringen. Mein Präparat, nach der gewöhnlichen Phasinmethode gewonnen, enthält 13.3% Wasser und 21.2% Asche. Bei der Berechnung auf reine Substanz ist von mir nicht nur Wasser und Asche, sondern auch der Gehalt an unlöslichem Phasin gleich mit abgezogen. Dieser unlösliche Teil nimmt wie bei allen diesen Stoffen bei trockener Aufbewahrung zu. Als Grenze der totalen Agglutination ergaben sich die in der nachfolgenden Tabelle enthaltenen Zahlen.

(Siehe die Tabelle auf S. 85.)

Diese Tabelle zeigt, dass das Rindenrobin mit dem Samenphasin der Robinie nicht identisch ist, obwohl beide in gleicher Weise dargestellt worden sind. Namentlich die Differenz gegenüber dem Hundeblut ist entscheidend. Auf Rinderblut sind

[1]) Observations on vegetable Haemagglutinins. Archivio di Fisiologia 7, 1909, Estratto.

Tabelle VI.

Übersicht über die Stärke der agglutinierenden Wirkung des Samenphasins der Robinie.

Nummer	Blutart:	Stärke der Wirkung
1	Pferdeblut	1 : 1 414 427
2	Taubenblut	1 : 1 407 300
3	Menschenblut	1 : 353 600
4	Katzenblut	1 : 140 735
5	Meerschweinchenblut	1 : 47 149
6	Kaninchenblut	1 : 28 147
7	Schweineblut	1 : 21 217
8	Kalbsblut	1 : 21 219
9	Hammelblut	1 : 14 073
10	Hundeblut	1 : 14 073
11	Ziegenblutkörperchen	1 : 5 000
12	Froschblut	1 : 2 800

beide Agglutinantien allerdings ohne Wirkung. Bei weiteren Versuchen wird sich ergeben, ob das Antirobin die Wirkung des Robinienphasins aufhebt und umgekehrt, ob das Antirobinienphasin die des Rindenrobins aufhebt. Darüber kann ich zur Zeit noch nichts aussagen. Wohl aber kann ich aussagen, dass Rizinserum mit dem Robinienphasin der Samen ebensowenig einen Niederschlag liefert als mit dem Rindenrobin. Glykosidspaltende Eigenschaft für Sinigrin besitzt mein trockenes Samenphasin ebensowenig als mein Rindenrobin.

X. Über einige noch unerwähnte Phasine.

1. Über Sojaphasin.

Mit der Soya der Inder, unter der nach Dey und Mair[1]) Peucedanum graveolens zu verstehen ist, ist die Soya oder Soja anderer ostasiatischen Völker nicht identisch. Unter letzterer verstehen wir die Soja hispida *Mönch* sive Glycine Soja sive Dolichos Soja *L.*

Nachdem vor kurzem in diesen Versuchsstationen mein Kollege Fr. Honcamp[2]) sich über diese Pflanze und ihre Be-

[1]) The indigenous Drugs of India by Kanny Lall Dey, Rai Bahadur, assisted by William Mair. Second Edition. Calcutta 1896, S. 233.

[2]) Die Sojabohne und ihre Abfallprodukte. Bd. 73, 1910, S. 241.

deutung für den Landwirt ausführlich ausgesprochen hat, kann ich mich mit einleitenden Bemerkungen um so kürzer fassen. Die den Landwirt angehenden Produkte sind Sojabohnenkuchen, Sojabohnenmehl und Sojabohnenschrot. Für die Ernährung der ärmeren Klassen wird Sojabohnenkäse, Sojabohnenbrot und Sojabohnenöl sehr bald eine erhebliche Wichtigkeit gewinnen. Der chinesische Prinz Li Yü-ying, vor kurzem noch Student in Paris, hat dort eine Bohnenkäsegesellschaft, Caséo-Sojaine genannt, gegründet, welche die Popularisierung der genannten Präparate anstrebt. Ein von dem Prinzen geschriebenes Buch Le Soja wendet sich an das gebildete Publikum. Es wird darin das Mehl und Brot der Soja unter anderem auch zur Verwendung für Zuckerkranke empfohlen, da es viel kohlehydratärmer ist als gewöhnliches Brot. Es entspricht ferner den Bedürfnissen der Vegetarier viel besser als unser Brot. Auch Sojazwiebacke, Sojamarmeladen und Sojamilch sind im Handel. Die Pflanze existiert in vielen Varietäten, von denen mehrere auch in unserem Klima mit Vorteil gebaut werden können und sich sicher einbürgern werden. Auch zur Herstellung von Genussmitteln, von denen die Sojasauce das bekannteste ist, dient unsere Pflanze. Uns interessieren hier die in der getrockneten Bohne bis zu 40% vorhandenen Eiweissstoffe. Diesen haben wir uns nunmehr zuzuwenden. Zu ihnen gehört wohl auch die in jedem wässrigen Sojabohnenauszug neben den noch zu besprechenden Eiweissen enthaltene Soja-Urease, welche T. Takeuchi[1]) entdeckt hat. Ich kann diese Urease zum Harnstoffnachweis durchaus empfehlen; sie wandelt Harnstoff bei Körpertemperatur rasch in Ammoniumkarbonat um; andere Amidsubstanzen bleiben unbeeinflusst.

Nach Th. B. Osborne[2]) besteht der Hauptteil des Eiweisses der Sojabohne aus Glycinin. Dieses gehört zu den Globulinen.

In den Kochsalzextrakten des Sojabohnenmehles finden sich neben dem Glycinin nach Osborne auch geringe Mengen eines anderen Globulins, das in verdünnteren Salzlösungen löslich ist. Weiter finden sich in diesen Auszügen ungefähr 1.5 % eines

[1]) Journal Coll. Agricult. Jap. (Tokio 1909) Jahrg. 1, 1; ref. in Apotheker-Ztg. 1909, S. 886.

[2]) Biochem. Handlexikon, herausgegeben von Abderhalden, Bd. 4 (Berlin 1911), S. 7.

Albumins, das Legumelin, und endlich ein geringer Anteil Proteosen. Das Glycinin gleicht im grossen und ganzen dem Legumin; immerhin zeigt es Unterschiede, die so bedeutend sind, dass kein Zweifel über die Verschiedenheit beider Proteine herrschen kann. Glycinin ist wie Legumin in Wasser löslich, wenn es frei von kombinierter Säure ist; wenn es aber mit einer genügend geringen Menge Säure verbunden ist, bildet es Salze, welche die charakteristischen Eigenschaften der Globuline haben. Es ist dann in Wasser unlöslich, aber in verdünnten Salzlösungen löslich. Aus dem Sojabohnenmehl wird mit Wasser mehr als 16 % Glycinin extrahiert. Es kann durch ein wenig Säure als ein in 10 %iger Kochsalzlösung lösliches Salz aus der Lösung gefällt werden. Mit grösseren Säuremengen bildet es Verbindungen, die in Wasser löslich sind. Die Bildung solcher Salze ist möglicherweise von Denaturierung begleitet. Die Salze, welche Glycinin mit der geringen Menge Säure bilden, die während des Isolierprozesses aus den Samen mit in die Extrakte übergeht, sind in Lösungen, die 2 % oder mehr Kochsalz enthalten, löslich. In Lösungen, die weniger als 2 % ClNa enthalten, vermindert sich rasch die Löslichkeit und zwar entsprechend dem geringeren Gehalte an Kochsalz. In verdünnten Chlornatriumlösungen gelöstes Glycinin gibt mit Essigsäure Fällungen, die in einem Überschuss von Säuren oder von Kochsalz löslich sind. Durch Sättigung seiner Kochsalzlösungen mit Magnesiumsulfat oder Kochsalz wird es nicht niedergeschlagen. Es ist auch in verdünnten Ammonsulfatlösungen löslich. Zur Darstellung des Glycinins extrahiert man das entfettete Samenpulver mit 10 %iger Kochsalzlösung, sättigt das filtrierte Extrakt mit Ammonsulfat, löst den entstehenden mit konzentriertem Ammonsulfat gewaschenen Niederschlag in verdünntem Ammonsulfat, filtriert und dialysiert das klare Filtrat. Den Dialysenniederschlag löst man in 10 %iger Kochsalzlösung und unterwirft ihn der fraktionierten Fällung durch Verdünnung, bis das löslichere Globulin entfernt ist. Dieser Zeitpunkt wird daran erkannt, dass das globulinfreie Glycin, in neutraler 10 %iger Kochsalzlösung gelöst, beim Erhitzen bis zum Sieden keine Gerinnung mehr liefert.

Das Legumelin der Sojabohne scheint mit dem der Erbse, Linse, Wicke, Saubohne usw. identisch zu sein. Es wird aus dem wässrigen Samenextrakt nach Entfernung der Globuline durch Dialyse beim Erhitzen auf 65° als Koagulum erhalten.

Bei langsamem Erhitzen bildet sich meist schon zwischen 55 und 60 ° eine Gerinnung.

Bei Hydrolyse des Glycinins mit verdünnter Salzsäure fanden Th. Osborne und S. H. Clapp[1]) als Hauptspaltungsprodukte Glutaminsäure (19.46 %), Leuzin (8.45 %), Arginin (5.12 %), ferner Asparaginsäure (3.89 %), Phenylanalin (3.86 %), Prolin (3.78 %), Lysin (2.71 %), Ammoniak (2.56 %). Nur in geringer Menge waren Tyrosin, Histidin und Glykokoll und nur spurenweise Alanin, Serin und Tryptophan nachweisbar. Unter den Fäulnisprodukten des Sojabohnenmehles fand K. Yoshimura[2]) β-Imidazoläthylamin, Kadaverin und Putrescin. Das β-Imidazoläthylamin ist bekanntlich einer der wirksamsten Stoffe des Mutterkorns.

Über das Sojabohnenöl sind wir durch Emil Marx,[3]) Korentschewski und A. Zimmermann,[4]) C. Oettinger und F. Buchta,[5]) S. Keimatsu,[6]) sowie endlich durch H. Matthes und A. Dahle[7]) sehr gut informiert. Letztere[8]) untersuchten gleichzeitig auch die Phytosterine dieses Öles. Seit der Wiener Weltausstellung in den siebziger Jahren hatte sich in Europa die Irrlehre verbreitet, das Sojaöl gehöre in die pharmakologische Gruppe des Krotonöles und sei daher als Gift, aber nicht als Nahrungsmittel zu betrachten. Marx in Hongkong widersprach schon 1900 dieser Anschauung, indem er darauf hinwies, dass in Newschwang seit langer Zeit Sojaöl für Speisezwecke in grossen Mengen gepresst werde und immer raschen Absatz finde. Erkrankungen danach kämen überhaupt nicht vor. Während des russisch-japanischen Krieges hatten der Arzt Korentschewski und der Apotheker Zimmermann in Charbin lange Zeit hindurch Gelegenheit, festzustellen, dass das Sojaöl als Speiseöl dort allgemein verwandt und von allen gut vertragen wurde. Sie stellten selbst solches Öl teils durch Auskochen, teils durch

[1]) Zeitschr. f. analyt. Chem. Bd. 48, 1909, S. 623.
[2]) Biochem. Zeitschr. Bd. 28, 1910, S. 16.
[3]) Ölfabrikation in China. Seifensiederzeitung 1900, No. 36, S. 351.
[4]) Chemiker-Zeitung 1905, No. 58, S. 777.
[5]) Zeitschr. f. angew. Chemie Jahrg. 24, 1911, No. 18, S. 828.
[6]) Chemiker-Zeitung 1911, S. 839.
[7]) Archiv der Pharmazie Bd. 249, 1911, S. 424.
[8]) Ebenda S. 436.

Extraktion mit Alkohol her und spritzten es Kaninchen und Mäusen unter die Haut, ohne diese Tiere dadurch krank zu machen. Die Möglichkeit, das Sojaöl durch den pharmakologischen Versuch in gleicher Weise festzustellen, wie wir dies für das Krotonöl kennen lernen werden, besteht also nicht, obwohl die Presskuchen nach Marx noch 15—25% der ursprünglichen Menge enthalten. Es lohnt daher hier nicht, auf die Einzelheiten der Öluntersuchung einzugehen; ich erwähne nur, dass das Öl 80% ungesättigte Fettsäuren enthält.

Nun erst kommen wir zum Sojaphasin, in dem vermutlich die beiden oben genannten spezifischen Eiweisskörper der Sojabohne enthalten sind. Genaueres darüber kann ich noch nicht angeben.

Das Phasin der Soja hispida, aus frischen von Amani bezogenen gelblichen Samen dargestellt, habe ich schon mit Wienhaus und mit Assmann untersucht. Es wirkt auf Katzenblut, Kaninchenblut, Meerschweinchenblut, Kalbsblut, Hammelblut, Schweineblut, Hühnerblut, Rattenblut, Rinderblut und Igelblut, die probeweise herangezogen wurden, rasch agglutinierend, auf Igelblut allerdings nur in grossen Dosen. Um bei der Untersuchung giftiger Sojakuchen das Sojaphasin von etwa vorhandenem Rizin zu unterscheiden, prüfte ich das Verhalten des Sojaphasins bei einstündigem Erhitzen auf 70° und stellte fest, dass es dabei seine agglutinierende Wirksamkeit auf fast alle Blutarten völlig verliert und nun statt dessen hämolytisch wirkt. Bei 75° wird es für alle Blutarten völlig wirkungslos. Es ist also sehr leicht möglich, Rizinus in Sojakuchen nachzuweisen, da das Rizin, wie ich schon wiederholt erwähnt habe, seine Wirksamkeit auf Blut und auf Tiere bei 70° unverändert beibehält. Wir haben hier also ganz analoge Verhältnisse wie beim Rizinusnachweis in Erdnusskuchen.

Neuerdings kommen einige Varietäten von Soja hispida auf den Markt. So erhielt ich freundlichst von der biologischen Station in Amani grüne und schwarze Sojabohnen. Ich habe auch diese geprüft und gefunden, dass sie ebenfalls je ein bei 70° unwirksam werdendes Phasin enthalten. Ob die drei Sojaphasine identisch sind, habe ich noch nicht untersucht.

2. Über Wistarienphasine.

Bei der nahen botanischen Verwandtschaft der Soja mit den Wistarien, die sich in den beiden Synonyma Glycine Soja für Soja hispida und Glycine sinensis für Wistaria sinensis genügend dokumentiert, lag mir daran, Wistariensamen auf Phasine zu untersuchen. Ich habe im ganzen vier Arten untersucht, konnte bisher wegen Mangel an Stoff aber nur bei Wistaria sinensis und Wistaria frutescens die Untersuchung zu einem gewissen Abschluss bringen. Dieser Abschluss lässt sich in den Satz zusammenfassen, dass beide Wistarien Phasine enthalten, dass diese aber weder unter sich noch mit denen der Soja identisch sind.

a) Ich bespreche zunächst das Phasin der Wistaria sinensis *DC.* oder, wie sie jetzt heisst, der Kraunhia floribunda *Taub.* Aus frischen Samen dargestellt, enthält dieses Phasin 10.06 % Wasser und 15.92 % Asche. Ein Teil wird wie bei allen Phasinen rasch unlöslich. Die in der nachstehenden Tabelle enthaltenen Angaben beziehen sich auf wasser- und aschefrei gerechnetes lösliches Phasin. Ich habe übrigens auch die Fruchthülsen im frischen Zustande auf Phasin verarbeitet; sie enthalten jedoch nichts davon. Dagegen fand ich in der Wistariarinde ein Hämolysin, das auf Meerschweinchenblut noch bei 1:20000 wirkt. Ganz unbeeinflusst vom Phasin der Samen der Wistaria sinensis bleibt das Froschblut und Schildkrötenblut, während Krötenblut wenigstens bei stärkeren Konzentrationen des Phasins agglutiniert wurde. Recht unempfindlich waren auch Meerschweinchen-, Katzen-, Hunde- und Rinderblut. Auf Katzen- und auf Igelblut wirkten ferner stärkere Konzentrationen, als sie zum Agglutinieren nötig sind, hämolytisch. Ziegenblut wurde von vornherein hämolysiert.

(Siehe die Tabelle auf S. 91.)

Nicht unerwähnt darf bleiben, dass das Phasin der Wistaria sinensis, frisch hergestellt, noch bei grosser Verdünnung ein Gemisch von alkoholischer Guajakonsäurelösung und einer Spur Wasserstoffsuperoxyd augenblicklich bläut. Dasselbe geschieht, wenn es zu dem Gemisch einer Lösung von essigsaurem Benzidin und Wasserstoffsuperoxyd gesetzt wird. Es ist also gleichzeitig eine Peroxydase oder enthält eine solche nebenbei. Der frische Hülsenauszug besass dagegen keine oxydierenden Eigenschaften.

Tabelle VII.

Übersicht über die agglutinierenden Wirkungen des Phasins der Wistaria sinensis.

Nummer	Blutart:	Grenze der totalen Agglutination
1	Kaninchenblutkörperchen	1 : 210 000
2	Ziegenblutkörperchen	1 : 125 000
3	Seehasenblut	1 : 80 000
4	Igelblut	1 : 42 353
5	Taubenblut	1 : 33 610
6	Kaninchenblut	1 : 33 610
7	Schweineblut	1 : 31 000
8	Hammelblut	1 : 21 000
9	Pferdeblutkörperchen	1 : 16 666
10	Menschenblut	1 : 8 430
11	Kalbsblut	1 : 8 430
12	Krötenblut	1 : 5 883
13	Meerschweinchenblut	1 : 2 353
14	Katzenblut	1 : 1 420
15	Hundeblut	1 : 1 176
16	Rinderblut	1 : 413

Bei subkutaner Einspritzung an Kaninchen wirkten Dosen des Phasins, welche pro Kilo Tier einem ganzen Gramm Samen entsprechen, nicht schädlich. Die bekanntlich erhebliche Giftigkeit der Wistaria sinensis hat also mit unserem Phasin nichts zu tun. Dass in der Rinde neben dem ätherischen Öle, neben dem von Ottow[1]) gefundenen giftigen Glykosid und dem giftigen Harze auch noch ein Rindenhämolysin vorhanden ist, habe ich schon oben kurz erwähnt; zurzeit kann ich aus Mangel an Material weiteres darüber noch nicht aussagen. Das oft gefälschte ätherische Öl unserer Pflanze riecht nach Menyanthol; beim Erwärmen mit Kali tritt nach Ottow ein kumarinartiger Geruch auf.

Das Phasin der Samen der Wistaria sinensis wird bei einstündigem Erhitzen auf 70° nicht unwirksam. Hier ist also der Tierversuch und der Versuch mit Rizinserum zur Unterscheidung notwendig.

[1]) N. Tijd. v. Ph. 1886, S. 207; zitiert nach G. Dragendorff, Heilpflanzen (Stuttgart 1898), S. 321. — Pharmac. Journal and Trans. 1886, Oct.

b) Die Wistaria speciosa *Nutt.* sive Wistaria frutescens *DC.* ist in Nordamerika heimisch und soll dort auch medizinisch benutzt worden sein. Auch bei dieser treten dem Gewicht nach die Samen gegen die Hülsen sehr zurück. Die von mir frisch aus Kew Gardens bezogenen Früchte enthielten auf 64 g phasinfreie Hülsensubstanz nur 9 g Samen (36 Stück). Auch hier gab das rein dargestellte Phasin Peroxydasenreaktion. Es enthielt 9.56 % Wasser und 15.16 % Asche. Sehr auffallend war mir, dass dies Präparat bei längerem Aufheben für sieben der von mir benutzten Blutarten seine Wirkung verlor, für andere dagegen sie ungeschwächt bewahrte. Die Ausbeute an Phasin aus den frischen ungetrockneten Samen betrug 15 %. Im Gegensatz zu dem Phasin der Wistaria sinensis wirkte das vorliegende bei fast allen Blutarten in grösseren Dosen total hämolytisch. Bei Rinder- und Pferdeblutkörperchen war die hämolytische Wirkung so stark ausgesprochen, dass die agglutinierende überhaupt nicht zum Ausdruck kam. Alles weitere besagt die nachstehende Tabelle.

Tabelle VIII.

Übersicht über die agglutinierenden Wirkungen des frischen Phasins der Wistaria frutescens.

Nummer	Blutart:	Grenze der totalen Agglutination
1	Igelblut	1 : 2000 000
2	Meerschweinchenblut	1 : 666 000
3	Katzenblutkörperchen	1 : 666 000
4	Kaninchenblut	1 : 300 000
5	Schweineblut	1 : 200 000
6	Ziegenblutkörperchen	1 : 125 000
7	Menschenblutkörperchen	1 : 41 667
8	Hammelblut	1 : 13 333
9	Menschenblut (vergl. No. 7)	1 : 12 222
10	Krötenblut	1 : 6 250
11	Seehasenblut	1 : 3 125

Der Nachweis der Samen von Wistaria frutescens in Futterkuchen hat für uns kein Interesse, da er in Europa kaum vorkommen dürfte. Die Unterscheidung der Phasine beider Wistarien vom Rizin ist durch einstündiges Erhitzen auf 70° nicht zu führen, da beide ihre agglu-

tinierenden Wirkungen ungeschwächt behalten. Natürlich aber gibt der Tierversuch und der Versuch mit Rizinserum sichere Entscheidung.

3. Über Caraganaphasin.

Der schon mehrfach von mir erwähnte Lafayette B. Mendel hat zuerst in den Samen der Caragana arborescens nach einem Agglutinin gesucht. Er fand, dass ein Auszug dieser Samen auf Kaninchen-, Schweine- und Hammelblut agglutinierend wirkt. Bei der nahen botanischen Verwandtschaft unserer Pflanze mit den schon genannten ist dies Ergebnis leicht verständlich. Das von mir dargestellte Caraganaphasin enthielt 12.27 % Wasser und 13.95 % Asche. Es büsste beim trockenen Aufheben an Löslichkeit erheblich ein. Die nachstehenden Angaben beziehen sich auf asche- und wasserfrei gerechnetes lösliches Phasin.

Tabelle IX.

Übersicht über die agglutinierenden Wirkungen des frischen Phasins der Caragana arborescens.

Nummer	Blutart:	Grenze der totalen Agglutination
1	Taubenblut	1 : 1000 000
2	Pferdeblutkörperchen	1 : 400 000
3	Katzenblut	1 : 20 000
4	Hammelblut	1 : 20 000
5	Schweineblut	1 : 20 000
6	Rattenblut	1 : 10 000
7	Ziegenblut	1 : 1 000
8	Meerschweinchenblut	1 : 500

Auf Kaninchenblut war die Einwirkung wie auf das der Meerschweinchen sehr gering, auf Menschenblut fast null; auf Rindsblut, Kalbsblut und Seehasenblut scheint gar keine Einwirkung vorhanden zu sein.

Erhitzen hebt die Wirksamkeit auch auf empfindliche Blutarten bei 70° C. binnen einer Stunde völlig auf. Eine Unterscheidung von Rizin ist also leicht möglich.

4. Über Canavalienphasin.

In die uns hier interessierende Abteilung der Phaseoleae gehört auch die tropische Canavalia. Eine Canavalia virosa *W. et Arn.* sive Dolichos virosa ist in Ostindien heimisch und wirkt giftig. Die Samen der ebenfalls dort heimischen Canavalia obtusifolia *DC.* sive Dolichos obtusifolia *Lam.* kommen als Verfälschung der Kalabarbohne vor. Die Früchte der Hackemesser-Kanavalie, Canavalia incurva, japanisch Nata-mame sind hackemesserähnliche riesige Schoten. Die darin enthaltenen Bohnen werden in Japan in reifem und auch schon in unreifem Zustand genossen. Die uns am meisten interessierende Art ist die Canavalia ensiformis *DC.* Sie wurde an mich von der Biologischen Station in Amani eingeschickt. Das Begleitschreiben meldet, dass sie dort sehr gut fortkommt und reichen Ertrag liefert, man wisse aber nicht, ob sie ungiftig sei. L. Lewin bezeichnet sie als nicht ganz unbedenklich. Nach G. Dragendorff kommt sie auch in Südasien, Westindien und Venezuela vor und dient hier und da als Gemüse; die Samen sollen auch bei Frauenkrankheiten und das Blatt gegen Arthritis verwandt werden. Die Bohne dieser Pflanze könnte, wenn ungiftig, für die Ernährung eine hohe Bedeutung erlangen. Eine eingehende Analyse der uns eingeschickten Samen ergab:

Wasser	12.24 %
Rohfett	2.96 „
Asche	2.71 „
P_2O_5	0.79 „
Stickstoffsubstanz	29.39 „
Maltose	0 „
Dextrin	1.58 „
Stärke	26.52 „
Rohfaser	7.55 „
Methylpentose, Rhamnose	1.15 „
Sonstige Pentosen bezw. Pentosane	9.54 bezw. 8.33 %
Lecithine	1.67 %

In einer früher von Assmann veröffentlichten Analyse meines Institutes ist der Stickstoffwert zu hoch und der Stärkewert zu niedrig ausgefallen. Ich nehme diese Angaben hiermit zurück. Über den Fettgehalt liegt mir die Angabe von Clemens Grimme[1]) vor, der 2.81 % gefunden hat, was zu obiger Angabe gut

[1]) Über Papilionaceenöle. Pharmaz. Zentralhalle Jahrg. 1911, S. 1141.

stimmt. Als Vorstehendes bereits zum Druck niedergeschrieben war, erschien die wichtige Mitteilung von Honcamp, Göttsch, Gschwendner, Zagorodsky und Zimmermann[1]) über die Zusammensetzung und Verdaulichkeit einiger landwirtschaftlicher Produkte aus Deutschlands afrikanischen Kolonien, in der sich auch eine Analyse unserer in Rede stehenden Samen befindet. Sie lautet:

Wasser	12.23 %	
Rohprotein	31.99 %	in der Trockensubstanz.
Rohfett	2.91 „	„ „
N-freie Extraktstoffe .	53.97 „	„ „
Rohfaser	7.78 „	„ „
Asche	3.35 „	„ „
P_2O_5	0.88 „	„ „

Die übrigen Bestandteile der Asche führe ich hier nicht mit an.

Das spezifische Gewicht des Öles fand Grimme bei 15° gleich 0.9169. Die Refraktion n_D bei 20° betrug bei uns 1.4737, und in Skalenteilen des Butter-Refraktometers bei 25° betrug sie 69.45. Die Jodzahl nach 3 Stunden betrug 80.35 und nach 18 Stunden 84.92. Grimme gibt 86.1 an. Unsere Verseifungszahl ist 197.1, die von Grimme 186.5. Den Säuregrad fanden wir zu 30.43, als Reichert-Meisslsche Zahl 0.54 und als Polenskesche Zahl 0.41. Das mikroskopische Bild der Stärkekörnchen unserer Pflanze erinnert an Bohnenstärke. Phytosterin liess sich im ätherischen Auszug leicht nachweisen. In ganz geringen Mengen ist auch ein alkaloidischer Stoff vorhanden, der in salzsaurer wässeriger Lösung mit Phosphorwolframsäure, Phosphormolybdänsäure, Jodjodkalium, Kaliumquecksilberjodid und Kaliumwismutjodid einen Niederschlag gibt. Unglücklicherweise wurde die Hauptmenge dieser Base weggegossen, so dass ich leider die damit beabsichtigten Tierversuche nicht anstellen konnte. Sie wären sehr wünschenswert gewesen, da die ersten Auszüge, welche aus den frisch angekommenen Samen gewonnen wurden, krampfartige Erscheinungen bei Tieren auslösten. Je mehr ich das Phasin reinigte, desto mehr schwanden diese Wirkungen, und ich bin jetzt zu der Erkenntnis gelangt, dass das reine Agglutinin der Canavalia ensiformis in den hier in

[1]) Landw. Versuchs-Stationen Bd. 77, 1912, S. 305.

Betracht kommenden Dosen bei Warm- uud Kaltblütern nach Einspritzung unter die Haut ungiftig ist, also als ein echtes Phasin zu bezeichnen ist. In der Publikation von Assmann musste diese Frage noch offen gelassen werden. Welcher Art das Gift unserer Pflanze übrigens auch sein mag, so viel kann man schon jetzt aussagen, dass ordentliches Kochen der Samen eine ungiftige Speise liefert. In diesem Sinne habe ich mich auch in meinem Bericht an das Kaiserliche Biologisch-Landwirtschaftliche Institut in Amani vom 14. August 1909 ausgesprochen.

Die Gewinnung des Phasins aus den Bohnen der Canavalia ensiformis war mit grossen Schwierigkeiten verbunden, da die Eiweissstoffe sehr leicht die Filter verstopfen und da auf Zusatz selbst des doppelten Volumens Alkohol zu den Originalauszügen keine sofort gut filtrierbare Fällung eintrat. Ein Teil des 20%igen Originalauszuges, der mit Hilfe von physiologischer Kochsalzlösung gewonnen worden war, wurde daher einer fraktionierten Fällung unterworfen nach folgendem Schema:

I.	650	Auszug	+ 130	Alkohol	= 1 + 0.2	= 17 %	Alkohol.
II.	730	Filtrat	+ 120	„	= 1 + 0.4	= 28 „	„
III.	800	„	+ 340	„	= 1 + 1	= 50 „	„
IV.	1050	„	+ 525	„	= 1 + 2	= 67 „	„

Bei der Prüfung dieser vier Portionen ergab sich, dass die zweite am unwirksamsten war, während der wasserlösliche Teil der dritten und vierten natürlich klein war, aber wieder stärker wirkte. Es wurde infolgedessen, da es auf quantitative Ausfällung mir weniger ankam als auf ein gut wirkendes und löslich bleibendes Phasin, ganz in der gewöhnlichen Weise nach S. 2 verfahren, das gewonnene Phasin aber vor dem Trocknen dann sofort noch einmal gelöst und von neuem gefällt. Der dabei unlöslich gewordene Teil wurde bei der Berechnung in Abzug gebracht.

So erhielt ich ein für Blut recht wirksamens Präparat, welches auf das Nervensystem von Kalt- und Warmblütern in den hier in Betracht kommenden Dosen ohne Einwirkung war. 50 mg davon störten nach Einspritzung unter die Haut das Wohlbefinden eines kleinen Kaninchens von 800 g nicht. Beim einstündigen Erhitzen der Kanavalinlösung auf 70° ging ihre Wirksamkeit nur für einzelne Blutarten verloren, aber keineswegs für alle. Erst bei einstündigem Erhitzen auf 75°

verliert dieses Phasin alle agglutinierenden Eigenschaften. Seine Unterscheidung von Rizin in Futterkuchen ist also wohl möglich, da das Rizin nicht nur das Erhitzen auf 70°, sondern selbst das auf 75°, wenn auch nicht ganz ungeschwächt, aushält.

Die in nachstehender Tabelle enthaltenen Werte sind grösser als die von Assmann veröffentlichten, da es sich hier um aschefrei gerechnetes Phasin handelt und da das Präparat reiner war. Es enthielt 8.6% Wasser und 6.7% Asche.

Tabelle X.

Übersicht über die agglutinierenden Wirkungen des reinen Phasins der Canavalia ensiformis.

Nummer	Blutart:	Grenze der totalen Agglutination
1	Meerschweinchenblut	1 : 400 000
2	Katzenkörperchen	1 : 400 000
3	Igelblut	1 : 200 000
4	Katzenblut (vergl. No. 2)	1 : 143 500
5	Hahnblut	1 : 134 000
6	Kalbsblutkörperchen	1 : 133 000
7	Pferdeblutkörperchen	1 : 114 400
8	Rinderblut	1 : 100 000
9	Kaninchenblut	1 : 22 850
10	Hundeblut	1 : 20 000
11	Schweineblut	1 : 17 200
12	Menschenblut	1 : 17 200
13	Ziegenblut	1 : 11 430
14	Hammelblut	1 : 3 825
15	Froschblut	1 : 2 300
16	Karpfenblut	1 : 800
17	Ratte	1 : 482

5. Über Ormosienphasin.

Die Ormosien sind tropische Bäume mit prachtvollen weissen, violetten oder schwarzpurpurnen Blüten, die meist endständige Rispen oder Trauben bilden. Die stattlichen Samen sind scharlachrot oder schwarzgefleckt. Die beiden bekanntesten Arten sind die Ormosia dasycarpa *Jacks.* in Brasilien, die das für narkotisch geltende Alkaloid Ormosin (nicht Armosin) enthält, und die Ormosia coccinea *Jacks.*, ebenfalls in Südamerika einheimisch. Sie liefert ein geschätztes Holz; die Rinde ist alkaloidhaltig, höchstwahrscheinlich auch die Samen. Beide Arten

dürften auch in unseren Kolonien gedeihen. Mir standen nur einige über 30 Jahre alte Samen der Ormosia coccinea zur Verfügung. Es gelang mir jedoch trotzdem, in diesen ein Phasin nachzuweisen, das auf Kaninchenblut deutlich agglutinierend wirkt, während es Meerschweinchen- und Taubenblut unbeeinflusst lässt.

Ich führe diese uns sonst ferner liegende Samenart nur deshalb mit an, weil sie den Beweis liefert, dass die Phasine auch nach dreissigjährigem Lagern der Samen noch vorhanden sind, noch teilweis löslich sind und noch prompt wirken. Für Rizin habe ich den entsprechenden Nachweis schon 1887 erbracht.

6. Über Helmbohnenphasin.

Die Helmbohne, Dolichos Lablab *L.* sive Lablab vulgaris *Savi*, ist ein perennierendes hochwindendes Kraut der Tropen der alten und neuen Welt. Über den Futterwert seiner Samen haben soeben F. Honcamp, H. Göttsch, B. Gschwendner, M. Zagorodsky und H. Zimmermann[1]) wichtige Mitteilungen gemacht, die ich nicht zu referieren brauche. Das fette Öl unserer Bohne wurde von C. C. Grimme[2]) eingehend untersucht. Die Helmbohne existiert in zahlreichen Varietäten. Die von mir untersuchten Samen gehören zu derselben Sorte, welche Professor Honcamp und seine Mitarbeiter benutzten. Sie stammten wie jene aus Amani.

Es gelang mir, in ihnen ein Phasin nachzuweisen, das auf Kaninchen- und Meerschweinchenblut total agglutinierend wirkt, während es bei Tauben- und Katzenblut versagte. Erhitzen auf 70° für eine Stunde hebt diese Wirkung auf und ermöglicht die Unterscheidung von Rizin.

7. Über Sphenostylisphasin.

Die Samen von Sphenostylis stenocarpa bilden kleine schwarze Bohnen, über die in der pharmakologischen Literatur noch gar nichts zu finden ist. Sie werden von wildwachsenden Exemplaren der Pflanze in Ostafrika gesammelt und dienen als Nahrungsmittel für Menschen und Tiere. Ich erhielt eine Probe-

---

[1]) Landw. Versuchs-Stationen Bd. 77, 1912, S. 316.
[2]) Pharmaz. Zentralhalle Jahrg. 52, 1911, S. 1147.

sendung aus Amani. Prof. Honcamp[1]) liess Samen, deren Saatgut aus Udjidji bezogen war, analysieren. Die Analyse zeigt, dass die Sphenostylis den Hülsenfrüchten gleichwertig ist. Der Fettgehalt beträgt nur 1.51%. Hier kam es nur darauf an, festzustellen, ob ein Phasin vorhanden ist. In der Tat fand sich ein solches. Es wirkt auf Meerschweinchenblut, auf Pferdeblutkörperchen und Katzenblutkörperchen rasch agglutinierend; auf Menschenblut wirkt es dagegen nicht ein.

8. Über Erderbsenphasin.

Während die Erdnuss ausführlich abgehandelt werden musste, da sie eins der gewöhnlichsten Kraftfutter für unsere Landwirtschaft liefert, hat die Erderbse, Voandzeia subterranea *Thouars*, obwohl sie der Erdnuss sehr nahe steht, bisher für unsere einheimische Landwirtschaft noch keine grosse Bedeutung erlangt. Nachdem jedoch Honcamp[2]) durch Meilach Zagorodsky[3]) diese Samenart hat eingehend prüfen lassen, dürften bald grössere Mengen davon bei uns zur Verwendung gelangen. Die chemische Analyse ergab Durchschnittswerte, die denen unserer Hülsenfrüchte nahestehen, nur dass die Erderbse noch etwas reicher an Fett ist. Zagorodsky erhielt aus der ungeschälten Erderbse 5.778% Fett und aus der geschälten 7.011%. Clemens Grimme[4]) erhielt aus den ungeschälten Samen mittels Äther 6.24% hellbraunes, dünnflüssiges, nicht trocknendes Öl ohne Geruch und von angenehm mildem Geschmack. Er stellte alle Konstanten dieses Fettes fest. Die an 2 Hammeln gemachten Verdaulichkeitsversuche des Rostocker Landwirtschaftlichen Institutes ergaben, dass das Protein, die stickstofffreien Extraktstoffe und das Rohfett der Erderbse sehr hochverdaulich sind, die Rohfaser dagegen weniger.

Ich selbst begnügte mich, nachzuweisen, dass die Erderbse ein Phasin enthält, das auf Tauben- und Kaninchenblut unzweifelhaft agglutinierend wirkt, auf

---

[1]) Landw. Versuchs-Stationen Bd. 77, 1912, S. 319.

[2]) Landw. Versuchs-Stationen Bd. 77, 1912, S. 328.

[3]) Über einige tropische Pflanzen, die auch als Futtermittel Verwendung finden können, die Banane und die Erderbse. Dissert. Rostock 1911. — Der Tropenpflanzer, Aug. 1911, S. 413.

[4]) Pharmaz. Zentralhalle Jahrg. 52, 1911, S. 1149.

Meerschweinchenblut, Katzenblutkörperchen und Pferdeblutkörperchen aber ohne Wirkung ist. Zu weiteren Versuchen reichte die kleine, mir zur Verfügung gestellte Mustersendung nicht aus.

9. Über Phasine der Samen dreier einheimischer Futterkräuter.

Es versteht sich von selbst, dass sämtliche üblichen Futterkräuter darauf untersucht werden müssen, ob sie etwa Phasine enthalten. Ich habe hier zunächst nur drei von Lafayette Mendel unerwähnte herausgegriffen und in ihren Samen Phasine nachgewiesen. Über andere werde ich später berichten.

a) Medicago sativa, die Luzerne, wird allenthalben gebaut. Der Same wird in Indien als Fruchtabtreibungsmittel verwendet. Ich gewann daraus ein Phasin mit 3.9 % Wasser und 3.7 % Asche. Die Lösung dieses Phasins macht bei Katzenblutkörperchen und bei Kaninchenblut in kleinen Dosen totale Agglutination, in grösseren nebenbei Hämolyse, während es Menschenblut, Meerschweinchenblut, Rinderblut, Kalbsblut, Pferdeblutkörperchen und Hühnerblutkörperchen gar nicht beeinflusst.

b) Melilotus coeruleus, der Schafziegerklee wirkt durch das Phasin seiner Samen ebenfalls auf Kaninchenblut agglutinierend; Pferdeblutkörperchen, Taubenblut und Hühnerblut werden ebenfalls agglutiniert, aber in etwas geringerem Grade; Meerschweinchen- und Menschenblut wird gar nicht beeinflusst; Rattenblut wird hämolysiert.

c) Lotus corniculatus, der Schoten- oder Honigklee, lieferte ein Phasin mit 12.46 % Wasser und 6.52 % Asche. Dieses wirkte auf Pferdeblutkörperchen und auf Kaninchenblut noch bei 1 : 12000 total agglutinierend, auf Pferdeblutkörperchen ebenfalls agglutinierend, auf Meerschweinchen-, Menschen-, Ratten-, Katzen-, Rinds-, Kalbs-, Hühnerblut und Igelblut aber gar nicht ein.

Ich hoffe später noch über weitere auswählend wirkende Phasine aus Wiesenkräutern und Futterpflanzen berichten zu können. Die obigen drei werden bei 70° unwirksam, wodurch sie von Rizin leicht zu unterscheiden sind, wofern man nicht ihre auswählend agglutinierende Wirkung schon als genügendes Unterscheidungsmoment gelten lassen will.

XI. Über Papilionaceen, in denen statt der Phasine sich Hämolysine finden.

Ich habe schon wiederholt angegeben, dass einzelne Phasine auf einzelne Blutarten, namentlich bei Anwendung stärkerer Konzentrationen, nicht nur nicht agglutinierend, sondern hämolytisch wirken. Es scheint nun einzelne Papilionaceen zu geben, bei denen die nach Phasinmanier dargestellte Substanz sämtliche mir bequemer zugänglichen Blutarten nur hämolysiert, man mag die Konzentration wählen, wie man will.

Zum Verständnis der nicht pharmakologischen Leser dieser Arbeit muss ich hier bemerkend einschieben, dass es mehrere Gruppen vegetabilischer Stoffe gibt, die in isotonischen Salzlösungen suspendierte rote Blutkörperchen auflösen. Es sind vornehmlich die folgenden:

1. Die Glykoside der Saponingruppe besitzen, wie ich[1]) vor 25 Jahren gefunden habe, fast ausnahmslose starke hämolytische Wirkung; bei einigen geht sie bis über 1 : 100 000.

2. Die Alkaloide der Solaninpruppe; diese sind nämlich gleichzeitig Saponine. Auch hier ist die Stärke der hämolytischen Wirkung beträchtlich.

3. Einige Glykoside der Digitalingruppe, d. h. der die Herztätigkeit im Sinne der Digitalis purpurea beeinflussenden, z. B. Gitalin und Helleborein. Diese beiden Stoffe bilden sozusagen die Brücke zwischen der Gruppe der Saponine und der der digitalinähnlichen Herzgifte.[2])

4. Die Alkalisalze einiger stickstofffreien Harzsäuren, namentlich die der Agarizinsäure des Lärchenschwammes. Diese von Hideo Noguchi[3]) gefundene Tatsache scheint gar keine Beachtung gefunden zu haben. Ich[4]) habe vor kurzem von ganz anderen Gesichtspunkten aus den Lärchen-

[1]) Arch. f. exp. Pathol. u. Pharm. Bd. 23, 1887, S. 233.

[2]) R. Kobert, Über die wirksamen Bestandteile und die Verordnungsweise der Digitalis. Korresp.-Bl. des Mecklenburgischen Ärztevereinsbundes Jahrg. 1912, No. 333.

[3]) The antihaemolytic action of blood, sera, milk and cholesterin upon agarizin, saponin and tetanolysin. Reprinted from the University of Pennsylvania Medical Bulletin 1902, Nov.

[4]) Über die pharmakologische Bedeutung und die biologische Wertbestimmung der Sassaparillen und ihnen verwandter Drogen. Bericht d. Deutschen Pharmazeut. Gesellsch. Jahrg. 22, 1912, Heft 4, S. 240.

schwamm und das chemisch reine agarizinsaure Kalium von neuem untersucht und gefunden, dass der Lärchenschwamm noch bei 1:10000 und das agarizinsaure Kalium bei 1:50000 auf alle Blutarten hämolytisch einwirkt.

5. Die Alkalisalze einiger gesättigten und ungesättigten Fettsäuren, die in Pflanzen allerdings meist als Triglyzeride enthalten sind, aber durch präformierte Lipasen leicht abgeschieden werden.

6. Die Lezithine der Pflanzen wirken teils an sich, teils durch einzelne ihrer Spaltungsprodukte, d. h. durch gewisse Fettsäuren, hämolytisch. Da die Samen meist reich an Lezithinen und Phytosterinen sind, müssen diese beiden Klassen von Stoffen für die Prüfung auf Agglutinine und Hämolysine nach Möglichkeit ausgeschlossen werden. Die Phytosterine hindern die hämolytische Wirkung vieler Substanzen, so z. B. die aller Saponine.

7. Die Alkalisalze der Helvellasäure der frischen Lorchel, Helvella esculenta. Beim Trocknen wird sie unwirksam.

Alle unter 1—7 genannten Stoffe sind thermostabil, d. h. sie behalten auch beim Erhitzen ihrer Lösungen ihre hämolytischen Eigenschaften, während die jetzt folgenden Stoffe thermolabil sind, d. h. ihre Lösungen verlieren die Fähigkeit zu hämolysieren schon durch einstündiges Erhitzen auf 70°.

8. Das Amanitahämolysin des Knollenblätterschwamms ist von mir[1]) vor zwanzig Jahren entdeckt und als Phallin beschrieben worden. Es ist dann weiter von Abel und Ford[2]) sehr eingehend studiert und als Glykosid bezeichnet worden. Fr. Rabe[3]) dagegen ist meiner Ansicht beigetreten, dass es kein Glykosid ist, und dass es bei höherer Temperatur seine Wirkung völlig verliert. Ich rechne es in dieselbe Klasse von Stoffen, in welche das Rizin gehört, und zweifle auch nicht daran, dass eine Immunisierung dagegen möglich ist.

---

[1]) St. Petersburger med. Wochenschr. Jahrg. 16, 1891, S. 463 u. 471; Korresp.-Bl. des Mecklenburgischen Ärztevereinsbundes Jahrg. 1911, No. 323.

[2]) Journal of biolog. Chemistry vol. 2, 1907, S. 273; Arch. f. exp. Path. u. Pharm. Festband zur Schmiedebergfeier 1908, S. 8; Journal of biolog. Chemistry vol. 3, 1908, S. 297; Journal of Pharm. and exp. Ther. vol. 2, 1910, No. 2, S. 145 und No. 4, 1911, S. 285.

[3]) Beiträge zur Toxikologie des Knollenblätterschwammes. Zeitschr. f. exp. Pathol. u. Ther. Bd. 9, 1911.

9. Die nachstehenden, nach Phasinart dargestellten zwei Stoffe aus Samen von Papilionaceen.

a) Das Hämolysin der Kundebohne, Vigna sinensis *Endl.* Sie ist eine in Vorderindien heimische krautige Pflanze, die in mässigem Grade auch als Schlingpflanze bezeichnet werden kann. Sie ist die am weitesten verbreitete Bohnenart Afrikas. Sie existiert in verschiedenen Varietäten, die sich durch die Farbe der Samen unterscheiden. Die aus Amani bezogenen, im frischen Zustande gelbweiss aussehenden Samen der Stammart wurden, nachdem ich sie längere Zeit aufgehoben hatte, gelbbraun. Diese Pflanze gedeiht am Kilimandscharo bis zu einer Höhe von 2000 Metern. Sie hat für Ostafrika als Futterpflanze Bedeutung.

Honcamp und seine Mitarbeiter[1]) scheinen die ersten gewesen zu sein, die die Pflanze chemisch analysierten. Der von ihnen gefundene hohe Eiweissgehalt (30.26—30.94 % Rohprotein) zeigt, wie wichtig ihre Samen für die Ernährung sind. Das Fett wurde von C. C. Grimme dargestellt und hinsichtlich seiner Konstanten geprüft.

Ich selbst prüfte die Samen auf ihren Phasingehalt an neun verschiedenen Blutarten und fand bei Hühnerblut überhaupt keine deutliche Wirkung, bei Meerschweinchenblut, Kaninchenblut, Menschenblutkörperchen, Meerschweinblutkörperchen, Pferdeblutkörperchen, Hundeblut, Katzenblut, Katzenblutkörperchen, Rattenblut, Rinderblut, Kalbsblut und Igelblut aber deutliche Hämolyse ohne Agglutination. Sehr beträchtlich ist diese Wirkung freilich bei keiner einzigen Blutart. Bei den meisten 2 %igen Blutarten muss die Konzentration des Vignahämolysins 1 : 40 betragen, um totale Hämolyse hervorzurufen.

b) Dass im Besenkraut, Sarothamnus scoparius sive Spartium scoparium *L.*, Spartein und Scoparin enthalten sind, ist allgemein bekannt. Nach G. Dragendorff[2]) soll auch Cytisin als drittes Alkaloid darin gefunden worden sein. Eine Untersuchung der Samen auf Phasine scheint bisher noch niemand vorgenommen zu haben. Ich habe eine Substanz nach Phasin-

[1]) Pharmaz. Zentralhalle Jahrg. 52, 1911, S. 1148.

[2]) Die Heilpflanzen der verschiedenen Völker und Zeiten (Stuttgart 1898), S. 313.

art daraus dargestellt. Sie enthält 10.44 % Wasser und 7.36 % Asche. Der in Kochsalzlösung unlöslich gewordene Teil ist in der nachstehenden Tabelle jedesmal ebenfalls mit in Abzug gebracht worden. Das Phasin entpuppte sich bei den Versuchen als Hämolysin. Die Tabelle enthält meine Ergebnisse. Ich bemerke jedoch, dass bei einigen der hier angeführten Blutarten die hämolytische Wirkung manchmal ausblieb, nie aber in Agglutination umschlug.

Tabelle XI.

Übersicht über die Wirkungen des Hämolysins des Besenkrautes.

Nummer	Blutart:	Grenze der totalen Hämolyse
1	Katzenblut	1 : 22 800
2	Schweineblut	1 : 22 800
3	Taubenblut	1 : 11 490
4	Meerschweinchenblut	1 : 11 490
5	Kaninchenblut	1 : 7 835
6	Hundeblut	1 : 7 815
7	Menschenblut	1 : 4 690
8	Ziegenblutkörperchen	1 : 2 280
9	Kalbsblut	1 : 1 140

Rinder- und Hammelblut wurden von den hier in Betracht kommenden Dosen nicht beeinflusst.

Erhitzen für eine Stunde auf 70° machte dieses Phasin unwirksam. Eine Unterscheidung von saponinartigen Stoffen würde also durch Erhitzen auf diese Temperatur leicht zu ermöglichen sein.

XII. Über Pseudoagglutination.

Von der durch die in Kapitel I—X beschriebenen Stoffe entstehenden echten Agglutination der roten Blutkörperchen ist die Pseudoagglutination bezw. Ausflockung biologisch scharf zu unterscheiden.

Alle giftigen, echten, vegetabilischen Agglutinine scheinen bei Einfuhr steigender Dosen im Warmblüterorganismus die Bildung eines spezifischen Antiagglutinins anzuregen und ihre Lösungen dürften sämtlich, mit diesem spezifischen Antiagglutinin zusammengegossen, im Reagenzglas einen Niederschlag bilden. Wie weit ungiftige Agglutinine des Pflanzenreiches Anti-

agglutinine bilden, bedarf noch weiteren Studiums. Da das Robin ein solches bildet, sollte man meinen, dass alle Phasine im gleichen Sinne wirken. Dieser Anschauung widersprechen jedoch M. v. Eisler und L. v. Portheim,[1]) die sich umsonst bemüht haben, durch Einspritzen von Daturaphasin ein Antiagglutinin zu erzeugen. Hier müssen eben zahlreiche weitere Versuche angestellt werden.

Ganz anders als bei der Agglutination ist das Verhalten bei der Pseudoagglutination. Hier entsteht einfach in dem verdünnten Blute beim Zusatz der fraglichen Substanz ein feiner Niederschlag, der die Blutkörperchen adsorbiert und mit niederreisst. Eins der klassischsten Beispiele dieser Art habe ich selbst seinerzeit gefunden und durch Alfr. Siegfried[2]) beschreiben lassen. Versetzt man 2%ige Aufschwemmung von Blut oder Blutkörperchen mit einer frisch hergestellten Lösung von möglichst wenig alkalischem, kieselsaurem Natrium, so bildet sich allmählich unlösliche Kieselsäure und reisst die Blutkörperchen mit nieder, aber ein zusammenhängender Klumpen entsteht nicht. Hier handelt es sich also um ein unorganisches Pseudohämagglutinin.

Sehr viele aus Futtermitteln, z. B. aus Kleie, Erdnuss usw. gewonnene Kochsalzauszüge reagieren schwach sauer und geben beim Neutralisieren einen Niederschlag, dessen unorganische Bestandteile Kalk und Phosphorsäure sind. Würde man einen solchen Auszug unneutralisiert zu Blutkochsalzmischung setzen, so könnte ein Agglutinin vorgetäuscht werden, denn der bei dem Kontakt mit dem alkalischen Serum entstehende Niederschlag reisst die Blutkörperchen ganz oder teilweis mit nieder und kann den Eindruck der Ausflockung, ja der Agglutination machen. Gerade dieser Fehler liegt sehr nahe, so dass ich besonders vor ihm warnen muss.

Von den vegetabilischen Pseudoagglutininen sind in erster Linie alle Gerbstoffe im weitesten Sinne zu nennen, namentlich falls die betreffenden Auszüge, wie ja meist der Fall ist, sauer reagieren. Setzt man einen solchen Auszug zu Blut-

[1]) Über ein Hämagglutinin im Samen von Datura. Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. exp. Ther. Bd. 1, 1908, S. 151.

[2]) Ein Beitrag zur Kenntnis des physiologisch-chemischen und pharmakologischen Verhaltens des kieselsauren Natriums usw. Arch. internat. de Pharmacodynamie et de Thérapie Vol. 9, 1901, S. 225.

kochsalzlösung, so fällt gerbsaures Eiweiss aus und reisst die Blutkörperchen nieder. Hat man es mit völlig serumfreien Blutkörperchensuspensionen zu tun, so bildet sich an der Oberfläche der Blutkörperchen eine rauhe oder klebrige Schicht, welche ein Zusammenballen begünstigt. Untersucht man z. B. die frischen Hülsen der Wistaria sinensis oder der Wistaria frutescens, so bekommt man, selbst wenn man den Auszug neutralisiert hat, Pseudoagglutination durch einen Gerbstoff. Um diesem Fehler zu entgehen, schlägt man den Auszug mit Alkohol nieder und löst den Niederschlag wieder in Kochsalz auf. Enthält er jetzt immer noch Gerbstoff, so wiederholt man die Ausfällung. Bei Untersuchung von Rindenauszügen auf Phasine ist die Abscheidung der Gerbstoffe natürlich dringend erforderlich.

Eine weitere Gruppe von Stoffen, die Täuschung veranlassen können, sind die Sapogenine. Sapogenine sind hydrolytische Spaltungsprodukte von Saponinen und können sich unter Umständen neben ihren Muttersubstanzen, z. B. in Blättern, Fruchtschalen und Samen der Rosskastanie präformiert finden oder in Auszügen einzelner Wiesenpflanzen (z. B. der Silene nutans) und einzelner Getreideunkräuter (z. B. der Kornrade) durch geformte oder ungeformte Fermente bilden. Wie ich soeben dargetan habe, tut man gut, mehrere Klassen von Sapogeninen zu unterscheiden, die ich als Anfangssapogenine und Endsapogenine bezeichnet habe. Erstere enthalten noch Zucker und können daher auch als sekundäre Glykoside aufgefasst werden.[1])

Die Ausflockung durch Sapogenine kann in zweierlei Weise zustande kommen, und zwar erstens durch Kolloidwerden ihrer Lösung und zweitens bei einigen durch Bildung unlöslicher Kalksalze. Wir betrachten zunächst den ersten Fall.

Die neutralen Alkalisalze einiger Sapogenine haben die Neigung, bei längerem Stehen ihrer nicht zu verdünnten wässerigen Lösung in einen gallertartigen, also kolloidalen Zustand überzugehen, auch wenn die Sapogenine, aus denen die Lösungen gebildet worden sind, schön kristallinisch waren. Diese Neigung zum gallertartigen Unlöslichwerden ist natürlich um so stärker, je konzentrierter die Lösungen sind. Diese Neigung wird ferner durch Eintragen von Blut oder Blutkörperchen verstärkt. So

[1]) Eulenburgs Realencyklopädie der gesamten Medizin Bd. 13, 1912, Artikel Saponine.

kommt es, dass Gemische von Blut mit viel sapogeninsaurem Alkali unter Umständen beim Stehen kolloidal werden und in Flocken, die die Blutkörperchen adsorbieren und mit niederreissen, ausfallen, während analoge Gemische, die weniger Sapogenin enthalten, durch die hämolytische Kraft der Sapogenine total hämolysiert werden. Diese Tatsache habe ich durch W. Laube[1]) beschreiben lassen. Laube hat sie für ein von der Firma E. Merk bezogenes Endsapogenin, welches höchstwahrscheinlich aus dem Saponin der Gypsophila Arrostii Gussone dargestellt worden war, an vielen Blutarten durchuntersucht. Er benutzte allerdings zur Herstellung seiner physiol. Kochsalzlösung gewöhnliches Tafelsalz, welches nicht ganz rein ist. Die Blutarten hatten dieselbe Konzentration wie in meinen Versuchen. Die Lösung des Sapogenins erfolgte teils unter Neutralisierung mit Natronlauge, teils mit Natriumkarbonat. In einigen Versuchen war die Mischung etwas alkoholhaltig. Einige Versuche wurden glatt unter Zuhilfenahme von physiol. Kochsalzlösung, andere unter Benutzung von isotonischer Rohrzuckerlösung ausgeführt. Bei einigen wurde statt des käuflichen Sapogenins ein von Prof. Rosenthaler dargestelltes, aus derselben Droge stammendes angewandt. In allen Fällen war das Ergebnis dasselbe: grosse Dosen des Endsapogenins der Saponaria alba wirkten auf 9 von 12 Blutarten ausflockend, kleine hämolytisch. Die Einzelheiten gibt die folgende Tabelle. Nur 3 Blutarten reagierten bei keiner Konzentration mit Agglutination.

(Siehe die Tabelle auf S. 108.)

Soeben hat Prof. Rosenthaler die Liebenswürdigkeit gehabt, mir ein noch weit reineres, prachtvoll kristallinisches Endsapogenin derselben Droge zu senden. Ich löste es in der von ihm angegebenen Weise konzentriert unter Zuhilfenahme zunächst nur von Alkohol, neutralisierte mit Natronlauge und verdünnte dann mit chemisch reiner physiologischer Kochsalzlösung bis zu der erforderlichen Grenze und konstatierte, dass bei 1%igen Pferdeblutkörperchen sowie bei 2%igem Meerschweinchen- und Menschenblut bei 1:2000 bis zu 1:4000 rasch totale Ausflockung erfolgte, während

[1]) Beiträge zur Kenntnis der Wirkung einiger Sapogenine usw. Zeitschr. f. exp. Pathol. u. Ther. Bd. 10, 1912.

viel stärkere Verdünnungen, und zwar bis zu 1:40000, total hämolytisch wirkten.

Tabelle XII.

Doppelwirkung des Endsapogenins der Saponaria alba.

Nummer	Blutart:	Totale Ausflockung erfolgt bei 1.	Totale Hämolyse erfolgt noch bei 1:
1	Katzenblutkörperchen	433—600	6 000
2	Katzenblut	1100—1200	6 000
3	Kaninchenblut	600	2 200
4	Meerschweinchenblut	550—1100	4 333
5	Menschenblut	150—211	11 000
6	Menschenblutkörperchen	4333	20 000
7	Hammelblut	2200	11 000
8	Taubenblut	700	4 333
9	Pferdeblut	1909	4 333
10	Pferdeblutkörperchen	1500	7 500
11	Hühnerblut	600	3 000
12	Aalblut	600	3 500
13	Hundeblut	0	6 000
14	Schweineblut	0	11 000
15	Kalbsblut	0	24 285

Damit ist der Verdacht, dass die Laubeschen Versuche bei Anwendung von chemisch reinem Kochsalze keine Ausflockung gezeigt haben würden, widerlegt. Weiter liess sich auch direkt dartun, dass ein kleiner Gehalt des Kochsalzes an Chlorcalcium ohne Belang ist, denn die von mir verwandten Lösungen des kristallisierten Sapogenins der weissen Seifenwurzel geben mit 1%iger Lösung von Chlorcalcium versetzt keinen Niederschlag, da gerade dieses Sapogenin im Gegensatz zu gewissen anderen Sapogeninen ein wasserlösliches Kalksalz bildet.

Weiter war ich in der Lage, ein analysenreines kristallinisches Sapogeninkalium des Agrostemmasapotoxins der Kornrade zu verwenden, welches Prof. Brandl in München für mich dargestellt hatte. Es löste sich 1:100 in reiner physiol. Kochsalzlösung klar auf. Meine Versuche damit bezogen sich auf Katzenblutkörperchen, Hahnblut, Hahnblutkörperchen und Menschenblut der Placenta. Alle diese wurden 2%ig in physiol. Kochsalzlösung suspendiert. Ich verzichte auf die Einzelheiten und führe nur an, dass bei allen diesen Blutarten

das Agrostemmasapogenin als Kaliumsalz in einer Konzentration von 1:200 sofort total ausflockend und bei 1:2000 sofort total hämolytisch wirkte. Die Grenzen für beide Wirkungen festzustellen hatte ich nicht Substanz genug. Obiges genügt aber vollkommen, um zu behaupten, dass auch das in alkoholfreier reiner Kochsalzlösung klar lösliche Sapogeninkalium aus Agrostemmasapotoxin dem Endsapogenin aus Saponalbin sich analog verhält, d. h. dass es bei starker Konzentration ausflockend, bei geringerer aber hämolytisch wirkt.

Ich komme jetzt zu denjenigen Sapogeninen, welche in Wasser ganz unlösliche Kalksalze bilden und daher schon durch wenige Milligramme Kalk, die entweder im unreinen Kochsalz[1]) oder im Blutserum sich finden, leicht unlöslich werden. Hierher gehört z. B. das durch Hydrolyse des neutralen Mowhrinsaponin erhaltene Mowhrinsapogenin. Herr Prof. Spiegel hatte die Güte, mir mehrmals kleine Quantitäten davon zur Verfügung zu stellen. Setzte ich zu einer Lösung dieses Mowhrinsapogenins 1:1000 auch nur wenige Tropfen einer 1%igen Chlorcalciumlösung, so entstand fast momentan ein glasiger sehr voluminöser Niederschlag, der sehr geneigt war, Blutkörperchen mit sich niederzureissen und daher ebenfalls Ausflockung zu veranlassen.

Genug, Pseudoagglutination bezw. Ausflockung ist eine Erscheinung, auf die man beim Zusammenbringen von Sapogeninen mit Blut gefasst sein muss.

Zum Schluss sei es mir erlaubt meinen Mitarbeitern, namentlich Herrn Dr. Gonnermann und Herrn Dr. Halberkann, meinen verbindlichsten Dank zu sagen.

[1]) Kürzlich ist sogar der Vorschlag gemacht worden, die roten Blutkörperchen bei Versuchen über Hämolysine oder Agglutinine immer in chlorcalciumhaltiger physiologischer Kochsalzlösung zu suspendieren.

Namen- und Sachregister.

Abel 102.
Abrin 73.
Abrus precatorius 73.
Achundow, Abd. Chal. 38.
Agarizinsäure 101.
Agrostemma Githago 106, 108.
Amanitahämolysin 102.
Amanita phalloides 102.
Antirizin siehe Rizinserum.
Antirobin 80.
Arachis hypogaea 62.
Armosin siehe Ormosin.
Assmann, Fr. 59, 94, 96.
Ausflockung 105.
Baptisia versicolor 59.
Baumwollsamenkuchen 55.
Berkley, H. J. 29.
Besenkraut 103.
Bohnenmehl, rizinhaltiges 60.
Bohnenphasin 57, 58, 59.
Boole 69.
Brandl 108.
Buchta, F. 88.
Cajanus indicus 60.
Cambier 80.
Canavalia ensiformis 94.
„ incurva 94.
„ obtusifolia 94.
„ virosa 94.
Caragana arborescens 93.
Coltman 81.
Connstein 22.
Cornevin 28, 37, 82.
Coronilla scorpioides 60.
Croton Tiglium 68
Cruz Gonç. 29, 31.
Cushny 19, 31, 32.
Cytisin 103.
Dahle, A. 88.
Datura Ceratocaula 56.
„ ferox 56.
„ gigantea 56.
„ laevis 56.
„ Leichhardtii 56.
„ Metel 56.
„ Stramonium 56.
„ Wrightii 56.
Dey, Kanny Lall 85.
Digitalingruppe 101.
Dolichos Lablab 98.
„ obtusifolia 94.
„ Soja 85.
„ virosa 94.
Dragendorf, G. 103.
Dunstan 69.
Dymock, B. W. 68.
Ehrlich, P. 12, 16, 37, 75, 80, 83.
Eisler, v. 56, 105.
Elfstrand 8.
Emmerling 45.
Endsapogenine 106, 107.
Erbsenmehl, rizinhaltiges 61.
Erbsenphasin 57, 59.
Erderbsen 99.
Erdnussphasin 62, 63.
Euphorbia exigua 60.
„ pilosa 60.
Fettsäuren als Hämolytika 102.
Feuerbach, Herm. 62.
Flexner 29.
Fokin, S. 25.
Ford 102.
Fränkel 9.
Friedberger, E. 18.
Fröhner, Eug. 38.
Futterwicke 59.
Gerbstoffe als Ausflockungsmittel 105.
Gerstenmehl, rizinhaltiges 44.
Gitalin 101.
Glycine Soja 85.
Glycinin 86.
Goldregen 60.
Grana Tiglii 68.
Grantonbohne 59.
Green 21, 22.
Grimme, Clem. 94, 99, 103.
Gymnocladus canadensis 59.
Gypsophila Arrostii 107.
Hämagglutination 8.
Hämolysine in Pflanzen 101.
Haendel 18.
Hafermehl, rizinhaltiges 44.
Harris 3, 4, 5, 19, 35.
Harthcu 60.
Harzsäuren, hämolytische 101.
Hausmann, Walter 74.

Hecht, Hugo 8.
Helleborein 101.
Hellin, Heinr. 76.
Helmbohne 98.
Helvella esculenta 102.
Helvellasäure 102.
Hesperis matronalis 59.
Hirschheydt, E. v. 68, 69.
Honcamp, Fr. 85, 99, 103.
Honigklee 100.
Hoor, Karl 74.
Hoyer 22.
Itzkowitsch, Leon 69, 72.
Jacoby, M. 3, 13, 19, 32, 35.
Jalander, Y. W. 23, 24, 26, 27.
Jequirity 73.
Kalksalze als Ausflockungsmittel 105.
Keimatsu, S. 88.
Kieselsaures Natrium 105.
Klee 60.
Knollenblätterschwamm 102.
Koch, Rob. 74.
Kokoskuchen, rizinhaltiger 46.
Konglutination 8.
Korentschewski 80.
Kornradensamen 106, 108.
Kraunia floribunda 90.
Kronenwicke 60.
Krotin 68, 72.
Krotonharz 69.
Krotonöl 68.
Krotonolsäure 69.
Kundebohne 103.
Lablab vulgaris 98.
Lärchenschwamm 101.
Landsteiner, K. 10, 56.
Lau, C. 5, 80.
Laube, Willib. 107, 108.
Lathyrus odorus 59.
„ tingitanus 59.
„ vernus 59.
Legumelin 87.
Leinkuchen, rizinhaltige 54.
Lens esculenta 56.
Lewin, L. 13, 75, 81.
Lezithine 102.
Liebermann, L. v. 9, 11, 17, 18.
Linsenmehl, rizinhaltiges 61.
Linsenphasin 57, 59, 61.
Lorchel 102.
Lotus corniculatus 100.
Luzerne 100.
Mair, Will. 85.
Martin, S. K. C. 74.
Marx, Emil 88.
Matthes, K. 88.
Medicago sativa 100.
Melilotus coeruleus 100.
Mendel, Lafayette 3, 4, 5, 19, 35 59, 62.
Michaelis, Leonor 13.
Miessner 8, 13, 62.
Mitlacher 49.
Moeller, Jos. 49.
Müller, Franz 29, 32.
Neuberg, C. 19.
Nicloux 23.
Noguchi, Hid. 8, 101.
Oettinger, C. 88.
Oppenheimer 18.
Ormosia coccinea 97.
„ dasycarpa 97.
Osborne, Thom. B. 2, 3. 4, 5, 19, 20, 35, 86.
Otton 91.
Palmkernmehl, rizinhaltiges 45.
Pelouze 22.
Phallin 102.
Phaseolus ensiformis 58.
„ erectus 58.
„ lunatus 58.
„ multiflorus 59.
„ Mungo 58.
„ phasin 61.
„ vulgaris 56.
Phasine im allgemeinen 56.
Pisum sativum 56.
Platterbsen 59.
Portheim, L. v. 56, 105.
Power 80.
Pseudoagglutination 104.
Puffbohne 59.
Rabe, Fritz 102.
Raubitschek, K. 10, 17, 56.
Rewald 8, 62.
Ricinus albus 20.
„ commonis 1.
„ niger 20.
„ ruber 20.
„ spectabilis 20.
Rizinanaphylaxie 17.
Rizinantitoxin 12.
Rizin, Darstellung 1.
„ Definition 1.
„ Dosis letalis 35, 36.
„ Immunisierung 12.
Rizinserum 13, 28.
Rizintoxoid 80.

Rizin, Wirkung auf Tiere 28.
Rizinusferment 23.
Rizinuslipase 21.
Robin 80.
Robinia Pseudaccacia 80.
Robinienrinde 80.
Robiniensame 80.
Roggenkleie, rizinhaltige 44.
Rona, P. 7.
Rosenthaler 107.
Rosskastanie 106.
Samojloff, Alex. 71.
Saponine 101.
Sapogenine 105.
Sapogeninkalium 108.
Saubohnenmehl, rizinhaltiges 60.
Saubohnenphasin 59.
Sarothamnus scoparius 103.
Sauli, J. O. 8.
Schafziegerklee 100.
Schern, Kurt 17.
Schmorl 75, 77.
Schotenklee 100.
Sesamkuchen, rizinhaltiger 53.
Sieber, N. 78.
Siegel, A. 69.
Siegfried, Alfr. 105.
Silene nutans 106.
Sojabohne, grüne 89.
„ schwarze 89.
Sojabohnenöl 88.
Sojabohnenprodukte 86.
Soja hispida 59, 85.
Sojaphasin 85, 89.
Sojaurease 86.
Solanine 101.
Spartium scoparium 103.
Stepanoff, M. A. 31.
Stillmark, Herm. 1, 3, 4, 6, 16, 18.
Takahaschi, D. 7.
Takeuchi 86.
Taylor, Al. Engl. 24, 25, 27.
Teverolle de Lorraine 59.
„ de Picardie 59.
Trifolium incarnatum 60.
Trifolium pratense 59, 60.
Trigonella Foenum graecum 60.
Tschirch 20.
Uhlenhuth 17, 18.
Vicia atra 59.
„ circularis 59.
„ faba 59.
„ gigantea 59.
„ hybrida 59.
„ leucosperma 59.
„ lutea graminea 59.
„ macrochloris 59.
„ mazagana 59.
„ narbonensis 59.
„ pseudocracca 59.
„ sativa 59.
„ segetalis 59.
„ species 56.
„ unica 59.
„ villosa 59.
Vigna sinensis 103.
Voandzeia subterranea 99.
Waddell, L. A. 74.
Walter, Ad. 22.
Warden, C. J. H. 74.
Wartenberg 22.
Weizenausreuter, rizinhaltige 39.
Weizenkleie, rizinhaltige 40.
Werhowsky 75, 77.
Weserpferdebohne 59.
Wickenmehl, rizinhaltiges 60.
Wickenphasin 57, 61.
Wienhaus, O. 56, 57, 60, 62.
Wilenko 17.
Wistaria frutescens 92.
„ sinensis 59, 90.
„ speciosa 92.
Wistarienrinde 90.
Wolberg 81.
Wolfenden, N. 74.
Woronzow 6.
Zagorodsky, Meilach 99.
Zapel 81.
Zimmermann, A. 88.

WELLCOME LIBRARY INSTITUTE

um pratense 59. 60.
ella Foenum graecum 6
rch 20.
luth 17. 18.
atra 59.
ircularis 59.
aba 59.
igrantea 59.
ybrida 59.
neo-sperma 59.
tea graminea 59.
aerochloris 59.
azagana 59.
rbonensis 59.
endocracea 59.
tiva 59.
getalis 59.
pecies 56.
nica 59.
illosa 59.
sinensis 103.
eia subterranea 99.
ll, L. A. 74.
, Ad. 22.
n, C. J. H. 74.
nberg 22.
ansrenter, rizinhaltige 39.
klete, rizinhaltige 40.
wsky 75. 77.
ferbohne 59.
mehl, rizinhaltiges 60.
hasin 57. 61.
s. O. 56. 57. 60. 62.
17.
frutescens 92.
sinensis 59. 90.
speciosa 92.
rinde 90.
81.
en, N. 74.
ow 6.
dsky, Meilach 99.
1.
mann, A. 88.

Verlag von Paul Parey in Berlin SW., Hedemannstrasse 10 u. 11.

Die Untersuchung landwirtschaftlich und gewerblich wichtiger Stoffe.

Praktisches Handbuch

von

Dr. J. König,

Geh. Reg.-Rat, o. Prof. an der Westfälischen Wilhelms-Universität in Münster i. W.

Vierte, neubearbeitete Auflage.

Mit 426 Textabbildungen. Gebunden, Preis 35 M.

Die Ernährung der landw. Nutztiere.

Lehrbuch auf der Grundlage
physiologischer Forschung und praktischer Erfahrung.

Von

Dr. O. Kellner,

Geh. Hofrat und Professor, Vorstand der Königl. landw. Versuchsstation Möckern.

Sechste, vermehrte und verbesserte Auflage.

Gebunden, Preis 14 M.

Handbuch der tierischen Ernährung und der landwirtschaftl. Futtermittel.

Von

Dr. Emil Pott,

Professor in München.

Zweite, gänzlich neubearbeitete Auflage
der „Landwirtschaftlichen Futtermittel".

I. Band. **Tierische Ernährung.** Allgemeine Futtermittellehre, Futterzubereitung und Futterverabreichung. *Gebunden, Preis 9 M.*

II. Band. **Spezielle Futtermittellehre.** (Erste Hälfte.) Gerste, Grünfutter, Heu, Stroh, Dreschabfälle, Knollen, Wurzeln, fleischige Früchte, Körnerfrüchte, schädliche Pflanzen. *Gebunden, Preis 14 M.*

III. Band. **Spezielle Futtermittellehre.** (Zweite Hälfte.) Nebenprodukte der Öl-, Mühlen-, Stärke-, Brau-, Brennerei-, Zucker-, Sirup-, Traubenwein- und Backindustrie; Milch, Molkereiabfälle und andere animalische Produkte, Beifuttermittel. *Gebunden, Preis 15 M.*

Zu beziehen durch jede Buchhandlung.

Druck von Fr. Stollberg in Merseburg.